



1^Ο ΘΕΜΑΤΙΚΟ ΣΥΜΠΟΣΙΟ

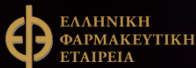
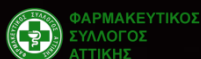
**Η Συμβολή Γονιδιακών Αναλύσεων
στην Προδιάθεση, Διάγνωση, Πρόγνωση
και Ορθή Φαρμακολογική Προσέγγιση Ασθενειών**

02 - 03 Μαρτίου 2013

Συνεδριακό Κέντρο «Αριστοτέλης», Τμήμα Φυσικής
Πανεπιστημιόπολη Ζωγράφου

Περιλήψεις ομιλιών

Με την Αιγίδα



Θα δοθούν 9 μόρια συνεχιζόμενης ιατρικής επιμόρφωσης



Καρδιαγγειακό Σύστημα – Αίμα

1.1

Συχνότητα Εμφάνισης του Σημειακού Νουκλεοτιδικού Πολυμορφισμού Rs9923231 του Γονιδίου VKORC1 και των Σημειακών Νουκλεοτιδικών Πολυμορφισμών Rs1799853 και Rs1057910 του Γονιδίου CYP2C9 που Σχετίζονται με τη Βαρφαρίνη, σε Δείγμα Ελληνικού Πληθυσμού.

Χατζηλιάδη Κωνσταντίνα, Δρακούλης Νικόλαος

Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Στην εργασία αυτή μελετήθηκε η συχνότητα εμφάνισης σημειακών νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (SNPs) δυο γονιδίων που σχετίζονται με το αντιπηκτικό φάρμακο βαρφαρίνη, του VKORC1 και του CYP2C9, σε δείγμα του ελληνικού πληθυσμού. Το γονίδιο VKORC1 είναι υπεύθυνο για την απόκριση του οργανισμού στη βαρφαρίνη και το CYP2C9 διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην κάθαρση του φαρμάκου αυτού.

Στην παρούσα μελέτη έλαβαν μέρος 614 άτομα από τον γενικό πληθυσμό. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι το 26,4% των εθελοντών ήταν ομόζυγοι για το αρχέγονο αλληλόμορφο (γονότυπος CC) του Rs 9923231, 46,2% ετερόζυγοι (CT) και 27,4% ομόζυγοι για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο (TT). Για το Rs 1799853, 73% ήταν ομόζυγοι για το αρχέγονο αλληλόμορφο (CC), 24,8% ήταν ετερόζυγοι (CT) και 2,3% ήταν ομόζυγοι για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο (TT). Τέλος, στον πολυμορφισμό Rs 1057910 παρατηρήθηκαν 85% ομόζυγοι για το αρχέγονο αλληλόμορφο (AA), 14,7% ετερόζυγοι (AC) και 0,3% ομόζυγοι εθελοντές για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο (CC).

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων των μετρήσεων έδειξε ότι σε άτομα ετερόζυγα ή ακόμη περισσότερο ομόζυγα για τον πολυμορφισμό **Rs 9923231** του γονιδίου VKORC1 οι **μέσες ημερήσιες απαιτήσεις σε βαρφαρίνη είναι μικρότερες** σε σύγκριση με άτομα χωρίς μεταλλάξεις του VKORC1. Επίσης, άτομα με αλληλόμορφα των πολυμορφισμών **Rs 1799853** και **Rs 1057910** στο γονίδιο CYP2C9, έχουν μειωμένη ενζυμική δραστηριότητα, μεταβολίζουν τη βαρφαρίνη με πιο αργό ρυθμό κι έτσι απαιτούν

μικρότερες δόσεις βαρφαρίνης από τα άτομα που δεν παρουσιάζουν αυτούς τους πολυμορφισμούς.

Μελετώντας επομένως το γονότυπο των ασθενών καθίσταται δυνατή η εξατομίκευση της χορηγούμενης δόσης βαρφαρίνης, ώστε να είναι θεραπευτικά αποτελεσματική αλλά και ασφαλής, με περιορισμένο τον κίνδυνο εμφάνισης τοξικότητας και ανεπιθύμητων ενεργειών.

Βιβλιογραφία

1. Subhuti Dharmananda, Warfarin and Chinese Medicine, Institute for Traditional Medicine, Portland, Oregon, http://www.balancedconcepts.net/warfarin_chinese_medicine.pdf (Access date: 23/1/2013)
2. Link Karl Paul, The Discovery of Dicumarol and its Sequels, Circulation 1959, 19:97-107
3. Guillory J. Your Life Your Health - Coumadin: The Story of a Drug, Southeast Texas Medical Associates, The Examiner, 2002
4. Bhonoah Y. Warfarin: Rat poison or wonder Drug? Department of Chemistry, Imperial College of Science, Technology and Medicine, 2002, <http://www.ch.ic.ac.uk/local/projects/bhonoah/mechanism.html> (Access date: 23/1/2013)
5. Tong Yin and Toshiyuki Miyata, Warfarin dose and the pharmacogenomics of CYP2C9 and VKORC1- Rational and perspectives, Thrombosis Research 2007, 120, 1–10
6. Biss Tina T., Avery Peter J., Brandão Leonardo R., Chalmers Elizabeth A., Williams Michael D., Grainger John D., Leathart Julian B. S., Hanley John P., Daly Ann K. and Kamali Farhad, VKORC1 and CYP2C9 genotype and patient characteristics explain a large proportion of the variability in warfarin dose requirement among children, blood 2012, 119: 868-873
7. The International Warfarin Pharmacogenetics Consortium, Estimation of the Warfarin Dose with Clinical and Pharmacogenetic Data, N Engl J Med



2009;360:753-64

8. Brookes AJ, The essence of SNPs, Gene 1999 Jul8;234(2):177-86

9. Daniel E. Jonas and Howard L. McLeod, Genetic and clinical factors relating to warfarin dosing, Trends in Pharmacological Sciences, Vol.30, 7, 2009, 375-386,

10. Richard D. Howland, Mary J. Mycek, Pharmacology, Richard A. Harvey, Pamela C.

Champe (editors) 3rd edition, Πανεπιστημιακές εκδόσεις Παρισιάνου, Αθήνα, 2007, σ. 257

11. Zhu Yusheng, Shennan Michael, Reynolds Kristen K., Johnson Nancy A., Herrnberger Matthew R., Valdes Roland, Jr. and Linder Mark W., Estimation of Warfarin Maintenance Dose Based on VKORC1 (1639 G>A) and CYP2C9 Genotypes, Clinical Chemistry 53:7 1199-1205 (2007)

1.2

Φαρμακογενετική της ασενοκουμαρόλης: Συσχέτιση των πολυμορφισμών του CYP2C9 με το δοσολογικό σχήμα της ασενοκουμαρόλης

Σερετάκης Γρηγόρης¹, Κυριάκου Ηλίας², Δρακούλης Νικόλαος¹

¹Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

²Τομέας Αιματολογίας, Αττικών Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Αθηνών

Οι αντιβιταμίνες-Κ αποτελούν τα ευρύτερα χρησιμοποιούμενα per os αντιπηκτικά φάρμακα τις τελευταίες δεκαετίες, παγκοσμίως. Η ενδείξεις χορήγησής τους είναι η πρωτογενής και η δευτερογενής προφύλαξη από φλεβική (ΦΘΕΝ) και αρτηριακή (ΑΘΕΝ) θρομβοεμβολική νόσο. Ενώ η ασενοκουμαρόλη καταβολίζεται κατά 50% από το κυτόχρωμα CYP2C9, ακολουθώντας και εναλλακτικές οδούς καταβολισμού, το κυρίαρχο ενζυμικό σύστημα καταβολισμού της βαρφαρίνης είναι το CYP2C9. Στη παρούσα εργασία, μελετήθηκε η επίδραση των πολυμορφισμών CYP2C9*2 και CYP2C9*3 στον ελληνικό πληθυσμό σε σχέση με το δοσολογικό σχήμα της ασενοκουμαρόλης. Διερευνήθηκε η συσχέτιση μεταξύ των πολυμορφισμών CYP2C9*2 και CYP2C9*3 και της μείωσης της απαιτούμενης μέσης εβδομαδιαίας δόσης συντήρησης για τη διατήρηση του επιθυμητού στόχου INR, σε ασθενείς που λαμβάνουν αντιπηκτική αγωγή για θεραπεία ή προφύλαξη θρομβοεμβολικής νόσου. Στη μελέτη αυτή φάνηκε ότι η ηλικία, το σωματικό βάρος, η επιφάνεια σώματος και η επιπρόσθετη φαρμακευτική αγωγή αποτελούν σημαντικούς μη-γενετικούς παράγοντες, που επηρεάζουν σημαντικά τη μέση εβδομαδιαία δόση ασενοκουμαρόλης που απαιτείται για τη σταθερή και παρατεταμένη ρύθμιση του INR ενός ασθενή εντός του προκαθορισμένου στόχου. Άτομα που φέρουν τους πολυμορφισμούς CYP2C9*2 και CYP2C9*3 παρουσιάζουν αυξημένη ανταπόκριση στο φάρμακο. Τέλος, μελέτη

κατέδειξε ότι, ο πολυμορφισμός CYP2C9*3 προκαλεί σημαντικότερη μείωση της ενζυμικής δραστηριότητας από τον CYP2C9*2 και επομένως επηρεάζει την ανταπόκριση στην ασενοκουμαρόλη.

Βιβλιογραφία

1. Ansell J., Hirsh J., Poller L., Bussey H., Jacobson A., Hylek E.. The pharmacology and management of the vitamin K antagonists. The seventh ACCP conference on antithrombotic and thrombolytic therapy. Chest. 2004; 126:204S-33S.
2. Cage BF. Pharmacogenetics-based coumarin therapy, Hematology Am Soc Hematol Educ Programm 2006; : 467-473
3. Markatos C. et al. VKORC1 and CYP2C9 allelic variants influence acenocourol dose requirements in Greek patients, Pharmacogenomics. 2008; 9: 1631-163
4. Hermida J., Zarza J., Alberca L. Differential effects of CYP2C9*2 and CYP2C9*3 variants of cytochrome P-450 CYP2C9 on sensitivity to acenocoumarol, Blood. 2002; 99: 4237-4239
5. Ansell J. et al. The pharmacology and management of the vitamin K antagonists, The seventh ACCP conference on antithrombotic and thrombolytic therapy, Chest. 2004; 126:204S-33S
6. Tassies D. et al. Pharmacogenetics of acenocoumarol : cytochrome P450 CYP2C9 polymorphisms influence dose requirements and stability of anticoagulation, Haematologica 2002; 87: 1185-1191
7. Thijssen HHW. et al., The possession of the CYP2C9*3 allele is associated with low dose requirements of acenocoumarol, Pharmacogenetics 2000;10:757-760



8. Schalekamp T., Johana H., Van Geest-Daalederop H., De Vries-Goldschiding H., Acenocoumarol stabilization is delayed in CYP2C9*3 carriers, *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 2004; 75: 394-402
9. Schalekamp T., Brasse BP., Roijers JF. VKORC1 and CYP2C9 genotypes and acenocoumarol anticoagulation status : interaction between both types affects overanticoagulation, *Clin Pharmacol. Ther.* 2006; 80(1): 13-22
10. Rettie AE., Tai G. The pharmacogenomics of warfarin : closing in on personalized medicine, *Mol Interv.* 2006 Aug; 6 : 223-227
11. Bodin L., Verstuyft C., Tregouet DA. Cytochrome P450-CYP2C9 and vitamin K epoxide reductase genotypes as determinants of acenocoumarol sensitivity, *Blood* 2005 ; 106 : 135-140
12. Thijssen HHW, et al. Altered pharmacokinetics of R- and S- acenocoumarol in a subject of heterozygous for CYP2C9*3, *Clin Pharmacol Ther* 2001 ; 70: 292-8
13. D'Andrea G., D'Ambrosio R., Margaglione M. Oral anticoagulants : Pharmacogenetic relationship and non-genetic factors. *Blood Reviews* 2008; 22:127-140

1.3

Η Θρομβοφιλία ως Αίτιο καθ' έξιν Αποβολών

Σουρέτη Νατάσα, Δρακούλης Νικόλαος

Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η έρευνα αυτή πραγματοποιήθηκε με σκοπό να εκτιμήσουμε τη συσχέτιση μεταξύ σημειακών νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών PAI 1 4G/5G, ACE - Met 235Thr, NOS 3 - T768C, NOS 3 - Glu298Asp, APOE E3/E4 T3937+C4075/C3937+C4075, MTHFR C677T, MTHFR A1298C και την πιθανότητα εμφάνισης του συνδρόμου καθ' έξιν αποβολές. Η παρουσία πολυμορφισμών στα παραπάνω γονίδια έχει συσχετιστεί με ανωμαλία στη διαδικασία πήξης του αίματος και καταστάσεις θρόμβωσης, αγγειακών προβλημάτων, αποβολών, προεκλαμψίας και γενικά με προβλήματα που υποδεικνύουν θρομβοφιλική προδιάθεση του ασθενούς. Επίσης ερευνήθηκε αν τα μεταλλαγμένα γονίδια σχετίζονται με την ηλικία της γυναίκας και τον τύπο θεραπείας της.

Υλικά και Μέθοδος: 40 γυναίκες με καθ' έξιν αποβολές στο ιστορικό τους, μελετήθηκαν μαζί με 80 γυναίκες για μάρτυρες και όλες άνηκαν στον Ελληνικό πληθυσμό, με την μέθοδο της αλυσιδωτής πολυμεράσης.

Αποτελέσματα: Σε όλες τις γυναίκες μελετήθηκε ο γονότυπός τους ως προς τις ακόλουθες μεταλλάξεις, όπου συσχετίστηκαν με θετικό ή αρνητικό ιστορικό καθ' έξιν αποβολών και με θρομβοφιλία: Αναστολέας του Ενεργοποιητή του Πλασμινογόνου (PAI-1) 4G/5G (p 0,494 / p 0,102), Μετατρεπτικό Ένζυμο της Αγγειοτενσίνης (ACE) Met

235Thr (p 0,930 / p 0,179), Ενδοθηλιακή Συνθάση Νιτρικού Οξέως (NOS 3) T768C (p 0,125), Ενδοθηλιακή Συνθάση Νιτρικού Οξέως (NOS 3) Glu298Asp (p 0,532 / p 0,91), Απολιποπρωτείνη E3/E4 (APOE3 / E4) T3937 + C4075 (p 0,383 / p 0,308) / C3937 + C4075 (p 0,999 / p 0,177), Μεθυλεντετραυδροφολική Αναγωγή (MTHFR C677T) (p 0,470 / p 0,501 Μεθυλεντετραυδροφολική Αναγωγή, (MTHFR A1298C) (p 0,750 / p 0,963). Παρατηρήσαμε την ήδη γνωστή συσχέτιση μεταξύ των πολυμορφισμών: rs1801133-C677T MTHFR, rs1801131-A1298C MTHFR, rs429358-APOE και rs699-ACE και των πληθυσμών, ενισχύσαμε την σημαντική συσχέτιση του πολυμορφισμού rs1799768-PAI-1 και αποκαλύφθηκε σημαντική επίσης συσχέτιση του πολυμορφισμού rs1799983-NOS3 Glu-298-Asp μεταξύ των πληθυσμών.

Συμπεράσματα: Τα αποτελέσματά μας επιβεβαίωσαν το γεγονός ότι οι γενετικές μεταβολές που ενέχονται στην εμφάνιση της θρομβοφιλίας έχουν μεγάλη σημασία για το αποτέλεσμα της εγκυμοσύνης σε γυναίκες με καθ' έξιν αποβολές και γενετικό υπόβαθρο θρομβοφιλίας.

Βιβλιογραφία

1. Bremme KA. Haemostatic changes in pregnancy. *Best Pract Res Clin Haematol* 2003;16:153-68.



2. O'Riordan MN, Higgins JR. Haemostasis in normal and abnormal pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2003;17:385–96.
3. Dalaker K, Prydz H. The coagulation factor VII in pregnancy. *Br J Haematol* 1984;56(2):233-241.
4. Phillips LL, Rosano L, Skrodelis V. Changes in factor XI (plasma thromboplastin antecedent) levels during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1973;116(8):1114-1116.
5. Condie RG. A serial study of coagulation factors XII, XI and X in plasma in normal pregnancy and in pregnancy complicated by pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1976;83(8):636-639.
6. Bonnar J, McNicol GP, Douglas AS. Fibrinolytic enzyme system and pregnancy. *Br Med J* 1969;3(5667):387-389.
7. Faught W, Garner P, Jones G, Ivey B. Changes in protein C and protein S levels in normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1995;172:147–150.
8. Fernandez JA, Estelles A, Gilabert J, Espana F, Aznar J. Functional and immunologic protein S in normal pregnant women and in full-term newborns. *Thromb Haemost* 1989;61((3):474-478.
9. Weiner CP, Brandt J. Plasma antithrombin III activity in normal pregnancy. *Obstet Gynecol* 1980;56(5):601-603.
10. Biezenski JJ, Moore HC. Fibrinolysis in normal pregnancy. *J Clin Pathol* 1958;11(4):306-310.
11. Menon IS, Peberdy M, Rannie GH, Weightman D, Dewar HA. A comparative study of blood fibrinolytic activity in normal women, pregnant women and women on oral contraceptives. *J Obstet Gynaecol Br Commonw* 1970;77(8):752-756.
12. Ishii A, Yamada S, Yamada R, Hamada H. t-PA activity in peripheral blood obtained from pregnant women. *J Perin Med* 1994;22(2):113-117.
13. Kruithof EK, Tran-Thang C, Gudinchet A, Hauert J, Nicoloso G, Genton C, Welte H, Bachmann F. Fibrinolysis in pregnancy: a study of plasminogen activator inhibitors. *Blood* 1987;69(2):460-466.
14. Chabloz P, Reber G, Boehlen F, Hohlfeld P, de Moerloose P. TAFI antigen and D-dimer levels during normal pregnancy and at delivery. *Br J Haematol* 2001;115(1):150-152.
15. Bellart J, Gilabert R, Miralles RM, Monasterio J, Cabero L. Endothelial cell markers and fibrinopeptide A to D-dimer ratio as a measure of coagulation and fibrinolysis balance in normal pregnancy. *Gynecol Obstet Invest* 1998;46(1):17-21.
16. Bremme K, Ostlund E, Almqvist I, Heinonen K, Blomback M. Enhanced thrombin generation and fibrinolytic activity in the normal pregnancy and the puerperium. *Obstet Gynecol* 1992;80(1):132-137.
17. Wallenburg HC, van Kessel PH. Platelet lifespan in normal pregnancy as determined by a non-radioisotopic technique. *Br J Obstet Gynaecol* 1978;134(7):739-742.
18. Fay RA, Hughes AO, Farron NT. Platelets in pregnancy: hyperdestruction in pregnancy. *Obstet Gynecol* 1983;61(2):238-240.
19. Fitzgerald DJ, Mayo G, Catella F, Entman SS, FitzGerald GA. Increased thromboxane biosynthesis in normal pregnancy is mainly derived from platelets. *Am J Obstet Gynecol* 1987;157(2):325-330.
20. Eldor A. Thrombophilia and its treatment in pregnancy. *J Thromb Thrombolysis* 2001;12:23–30.

1.4

Σχέση του πολυμορφισμού E298D του γονιδίου της ενδοθηλιακής συνθάσης του μονοξειδίου του αζώτου e-NOS με το έμφραγμα του μυοκαρδίου σε Έλληνες ασθενείς

Χαίδω Δαφνή¹, Δημήτρης Πανίδης¹, Διονύσιος Κόκκινος², Δρακούλης Νικόλαος¹

¹Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών,

²1^η Καρδιολογική Κλινική, Ωνάσειο Καρδιοχειρουργικό Κέντρο, Αθήνα

Εισαγωγή: Το μονοξείδιο του αζώτου (NO), παραγόμενο από την ενδοθηλιακή συνθάση του μονοξειδίου του αζώτου (eNOS), παίζει ένα ρόλο κλειδί στη ρύθμιση του αγγειακού

τόνου. Το παραγόμενο από το ενδοθήλιο NO παρουσιάζει αγγειοπροστατευτικές δράσεις καταστέλλοντας τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων, την προσκόλληση των



λευκοκυττάρων και τον πολλαπλασιασμό των λειών μυϊκών κυττάρων. Ο πολυμορφισμός *E298D* του eNOS έχει συσχετισθεί με το έμφραγμα του μυοκαρδίου (MI), αλλά σχετικά δεδομένα με αυτό τον πολυμορφισμό αποκλίνουν στην Ελλάδα. Συνεπώς, εξετάσαμε μία πιθανή συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού *E298D* του γονιδίου eNOS με το έμφραγμα του μυοκαρδίου σε μία υποομάδα του Ελληνικού πληθυσμού.

Υλικά και Μέθοδοι: Ο πληθυσμός της μελέτης αποτελείτο από 204 ασθενείς με ιστορικό εμφράγματος του μυοκαρδίου και 218 υγιείς μάρτυρες που επιλέχθηκαν από το γενικό πληθυσμό της ευρύτερης περιοχής των Αθηνών. Όλοι οι ασθενείς και οι μάρτυρες ήταν Έλληνες, Καυκάσιοι, κάτοικοι των Αθηνών στην Ελλάδα. Η ηλικία, το φύλο και ο δείκτης μάζας σώματος (BMI) δε διέφεραν μεταξύ των δύο ομάδων ($p > 0.05$).

Αποτελέσματα – Συζήτηση: Ο κίνδυνος για έμφραγμα του μυοκαρδίου στους *E298D* TT ήταν 2.064 (95% επίπεδο εμπιστοσύνης [CI], 1.064 με 4.005, $p < 0.05$) έναντι GG+GT και 2.342 (95% CI, 1.171 με 4.684, $p < 0.05$) έναντι GG. Ο κίνδυνος για το T αλληλόμορφο ήταν 1.416 (95%CI, 1.060 με 1.892, $p < 0.05$) έναντι του G αλληλομόρφου. Αυτός ο κίνδυνος ήταν υψηλότερος όταν ο γενετικός παράγοντας συνδυαζόταν με άλλους παράγοντες κινδύνου για το έμφραγμα, όπως το ανδρικό φύλο, η ηλικία < 60 ετών, το κάπνισμα, η υπέρταση, ο σακχαρώδης διαβήτης, η υπερχοληστερολαιμία και το θετικό οικογενειακό ιστορικό. Το κάπνισμα αύξησε το σχετικό λόγο πιθανοτήτων (OR) σε 3.873 (95%CI: 1.481-10.132, $p = 0.0040$) για TT έναντι GG και σε 3.161 (95%CI: 1.249-7.997, $p = 0.0192$) για TT έναντι του συνόλου GG και GT, υποδηλώνοντας μία σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ του καπνίσματος και του πολυμορφισμού του eNOS για έμφραγμα του μυοκαρδίου. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ του αλληλόμορφου *E298D* και του κινδύνου για EM στους μη καπνιστές (OR = 1.133, 95%CI: 0.2894-4.439, $p = 1.0000$). Σε αυτή τη μελέτη ερευνήσαμε την πιθανή συσχέτιση του πολυμορφισμού *E298D* και του κινδύνου για EM σε άτομα κάτω των 60 ετών. Για το λόγο αυτό διαχωρίσαμε τον πληθυσμό της μελέτης σε δύο ομάδες: μία ηλικίας κάτω των 60 ετών και μία ηλικίας ≥ 60 ετών. Παρατηρήσαμε ότι οι νεότεροι φορείς του T αλληλόμορφου του γενετικού πολυμορφισμού

e-NOS *E298D* είχαν αυξημένη πιθανότητα να εμφανίσουν EM (TT έναντι GG+GT: OR=10.455, 95%CI: 2.341-46.682, $p = 0.0003$), ενώ τα αποτελέσματα δεν ήταν στατιστικά σημαντικά στην ηλικιακή ομάδα των ≥ 60 ετών (OR=0.8366, 95%CI: 0.3556-1.968, $p = 0.8283$).

Συμπεράσματα: Αυτή η μελέτη υποδεικνύει ότι ο πολυμορφισμός *E298D* του γονιδίου eNOS πιθανώς να αυξάνει τον κίνδυνο για έμφραγμα του μυοκαρδίου στον Ελληνικό πληθυσμό, κυρίως όταν συνδυάζεται με άλλους καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου. Ο μοριακός μηχανισμός με τον οποίο ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός σχετίζεται με το EM παραμένει αδιευκρίνιστος. Επιπλέον, μελέτες απαιτούνται για να διαλευκανθεί εάν ο πολυμορφισμός *E298D* του γονιδίου eNOS αποτελεί έναν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου ή έναν έμμεσο δείκτη γενετικής συσχέτισης διαφορετικών γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων.

Βιβλιογραφία

1. Moncada S, Higgs A: The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993, 329:2002-2012.
2. Marsden PA, Heng HH, Scherer SW, Stewart RJ, Hall AV, Shi XM, Tsui LC, Schappert KT. Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene. *J Biol Chem* 1993, 268:17478-17488.
3. Hingorani AD, Jia H, Stevens PA, Monteith MS, Brown MJ. A common variant in exon 7 of the endothelial constitutive nitric oxide synthase gene. *Clin Sci* 1995, 88:21.
4. Hibi K, Ishigami T, Tamura K, Mizushima S, Nyui N, Fujita T, Ochiai H, Kosuge M, Watanabe Y, Yoshii Y, Kihara M, Kimura K, Ishii M, Umemura S. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and acute myocardial infarction. *Hypertension* 1998, 32:521-526.
5. Morray B, Goldenberg I, Moss AJ, Zareba W, Ryan D, McNitt S, Eberly SW, Glazko G, Mathew J. Polymorphisms in the paraoxonase and endothelial nitric oxide synthase genes and the risk of early-onset myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2007, 99:1100-1105.
6. Jo I, Moon J, Yoon S, Kim H, Kim E, Park H, Shin C, Min J, Jin Y, Cha S, Jo SA. Interaction between -786TC polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene and smoking for myocardial infarction in Korean population. *Clin Chim Acta* 2006, 365:86-92.



7. Agema WRP, de Maat MPM, Zwinderman AH, Kastelein JJP, Rabelink TJ, Van Boven AJ, Feskens EJM, Boer JMA, Van der Wall EE, Jukema JW. An integrated evaluation of endothelial constitutive nitric oxide synthase polymorphisms and coronary artery disease in men. Clin Sci (Lond) 2004, 107:255-261.
8. Antoniadou C, Tousoulis D, Vasiliadou C, Pitsavos C, Chrysoshoou C, Panagiotakos D, Tentolouris C, Marinou K, Koumallos N, Stefanadis C. Genetic polymorphism on endothelial nitric oxide synthase affects endothelial activation and inflammatory response during the acute phase of myocardial infarction. J Am Coll Cardiol 2005, 46:1101-1109.
9. Antoniadou C, Tousoulis D, Vasiliadou C, Pitsavos C, Toutouza M, Tentolouris C, Marinou K, Stefanadis C. Genetic polymorphisms G894T on the eNOS gene is associated with endothelial function and vWF levels in premature myocardial infarction survivors. Int J Cardiol 2006, 107:95-100.
10. Andrikopoulos G, Grammatopoulos D, Tzeis S, Zervou S, Richter D, Zairis M, Gialafos E, Sakellariou D, Foussas S, Manolis A, Stefanadis C, Toutouzas P, Hillhouse E for The GEMIG study investigators. Association of the 894G>T polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene with risk of acute myocardial infarction. BMC Med Genet 2008, 9:43-48.
11. Alpert JS, Thygesen K, Antman E, Bassand JP. Myocardial infarction redefined-a consensus document of the joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. J Am Coll Cardiol 2000, 36:959-969.
12. Celermajer DS, Sorensen KE, Spiegelhalter DJ, Georgakopoulos D, Robinson J, Deanfield JE. Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in women. J Am Coll Cardiol 1994, 24:471-476.
13. Dusting GJ. Nitric oxide in coronary artery disease: roles in atherosclerosis, myocardial reperfusion and heart failure. EXS 1999, 76:33-55.
14. Dusting GJ. Nitric oxide in cardiovascular disorders. J Vasc Res 1995, 32(3):143-161.

1.5

Επιπολασμός του Πολυμορφισμού Προσθήκης Απαλοιφής (I/D) στο Γονιδιακό Τύπο του Μετατρεπτικού Ενζύμου της Αγγειοτασίνης (ACE) και του Πολυμορφισμού Glu298Asp της Ενδοθηλιακής Συνθάσης του Μονοξειδίου του Αζώτου (eNOS) σε ένα Πληθυσμό Ελλήνων Υπερτασικών ή μη Ασθενών.

Κυριάκου Άγγελος¹, Τσιούφης Κωνσταντίνος², Δρακούλης Νικόλαος¹

¹Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

²Ιατρείο Υπέρτασης, Καρδιολογική Κλινική, «Ιπποκράτειο» Γ.Ν. Αθηνών, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η ιδιοπαθής υπέρταση και η παθογένεια της εξαρτάται από μια σύνθετη αλληλεπίδραση μεταξύ γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Το παραγόμενο από το ενδοθήλιο μονοξείδιο του Αζώτου (NO), το οποίο συντίθεται με τη συμμετοχή της ενδοθηλιακής συνθάσης του μονοξειδίου του Αζώτου (eNOS) και και το Μετατρεπτικό Ένζυμο της Αγγειοτασίνης (ACE), το οποίο είναι σημαντικό συστατικό του συστήματος Ρενίνης Αγγειοτασίνης Αλδοστερόνης (RAAS) κατέχουν κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης. Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της σχέσης του πολυμορφισμού Glu298Asp του γονιδίου του eNOS και του πολυμορφισμού του I/D του γονιδίου του ACE αυτών,

ξεχωριστά και σε συνδυασμό, με την ιδιοπαθή υπέρταση σε έναν Ελληνικό πληθυσμό. Συμμετείχαν 104 ασθενείς με υπέρταση (ομάδα υπερτασικών) και 96 υγιείς εθελοντές (μάρτυρες) και παρουσίασαν ομοιότητα στην ηλικία και το φύλο. Η λογιστική παλινδρόμηση που έγινε στους συνδυασμούς γονοτύπων από τους δυο πολυμορφισμούς, έδειξε ότι οι φορείς των GT/DI γονοτύπων έχουν 65% μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης υπέρτασης συγκρινόμενοι με τους φορείς των GG/DD γονοτύπων (OR=0.35; 95% CI: 0.13-0.89; p=0.028). Βρέθηκε ακόμα ότι, οι φορείς των γονοτύπων GT/DI έχουν 82% μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης υπέρτασης (OR=0.18, 95% CI:0.04-0.76, p=0.020) και ότι οι φορείς των γονοτύπων GG/DI έχουν 77% μικρότερο



κίνδυνο εμφάνισης υπέρτασης (OR=0.23, 95% CI:0.05-1.00, $p=0.050$) συγκριτικά με τους φορείς των TT/DD γονοτύπων.

Βιβλιογραφία

1. J Mackay, G Mensah, Atlas of Heart Disease and Stroke. 2004 World Health Organization. Geneva.
2. Wilson PW. Established risk factors and coronary artery disease: the Framingham Study. *Am J Hypertens*. 1994,7(7 Pt 2):7S-12S.
3. Williams RR, Hunt SC, Hasstedt SJ, Hopkins PN, Wu LL, Berry TD, Stults BM, Barlow GK, Schumacher MC, Lifton RP, Lalouel JM. Are there interactions and relations between genetic and environmental factors predisposing to high blood pressure? *Hypertension*. 1991;18(suppl 1):I-29-I-37.
4. Marsden PA, Heng HHQ, Scherer SW, Stewart RJ, Hall AV, Shi X-M, Tsui L-C, Schappert KT. Structure and chromosome localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene. *J Biol Chem*. 1993, 268:17478-17488.
5. Haynes WG, Noon JP, Walker BR, Webb DJ. Inhibition of nitric oxide synthesis increases blood pressure in healthy humans. *J Hypertens*. 1993, 11:1375-1380.
6. Huang PL, Huang Z, Mashimo H, Bloch KD, Moskowitz MA, Bevan JA, Fishman MC. Hypertension in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase. *Nature*. 1995,377:239-242.
7. Forte P, Copland M, Smith LM, Milne E, Sutherland J, Benjamin N. Basal nitric oxide synthesis in essential hypertension. *Lancet*. 1997, 349:837-842.
8. Hingorani AD, Liang CF, Fatibene J, Lyon A, Monteith S, Parsons A, Haydock S, Hopper RV, Stephens NG, O'Shaughnessy KM, Brown MJ. A Common Variant of the Endothelial Nitric Oxide Synthase (Glu298Asp) Is a Major Risk Factor for Coronary Artery Disease in the UK. *Circulation*. 1999,100:1515-1520.
9. Stankovic A, Zivkovic M, Alavantic D. Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism in a Serbian population: a gender-specific association with hypertension. *Scand J Clin Lab Invest* 2002, 62:469-476.
10. Cambien F, Alhencgelas F, Herbeth B, Andre JL, Rakotovao R, Gonzales MF, Allegrini J, Bloch C. Familial resemblance of plasma angiotensin-converting enzyme level: The Nansy Study. *Am J Hum Genet* 1988, 43:774-780.
11. Hilbert P, Lindpaintner K, Beckmann JS, Serikawa T, Soubrier F, Dubay C, Cartwright P, De Gouyon J, Julier C, Takahashi S, Vincent M, Ganten D, Georges M, Lathrop GM. Chromosomal mapping of two genetic loci associated with blood-pressure regulation in hereditary hypertensive rats. *Nature* 1991, 353:521-529.
12. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990, 86: 1343-1346.
13. Schunkert H, Hense HW, Muscholl M, Luchner A, Riegger AJG. Association of angiotensin converting enzyme activity and arterial blood pressure in a population-based sample. *J Hypertens* 1996,4:571-575. Benjafeld AV, Morris BJ. Associations analyses of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism in essential hypertension. *Am J Hypertens* 2000, 13:994-998.
14. Wolff B, Grabe HJ, Schluter C, Popowski K, Volzke H, Lüdemann J, John U, Felix SB, Cascorbi I. Endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp gene polymorphism, blood pressure and hypertension in a general population sample. *J Hypertens* 2005,20:1361-1366.
15. Karvonen J, Kauma H, Kervinen K, Rantala M, Ikaheimo M, Paivansalo M, Savolainen MJ, Kesäniemi A. Endothelial nitric oxide synthase gene Glu298Asp polymorphism and blood pressure, left ventricular mass and carotid artery atherosclerosis in a population-based cohort. *J Intern Med* 2002, 251:102-110.
16. Shoji M, Tsutaya S, Saito R, Takamatu H, Yasujima M. Positive association of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism with hypertension in northern Japan. *Life Sci*. 2000, 66:2557-2562.
17. Periaswamy R, Gurusamy U, Shewadea DG, Cherianb A, Swaminathanb RP, Duttat TK, Jayaramanc B, Chandrasekaran A. Gender specific association of endothelial nitric oxide synthase gene (Glu298Asp) polymorphism with essential hypertension in a south Indian population. *Clinica Chimica Acta* 2008, 395:134-136.
18. Pereira TV, Rudnicki M, Cheung BM, Baum L, Yamada Y, Oliveira PS, Pereira AC, Krieger JE. Three endothelial nitric oxide (NOS3) gene polymorphisms in hypertensive and normotensive individuals: meta-analysis of 53 studies reveals evidence of publication bias. *Hypertens*. 2007, 25:1763-1774.
19. Vassilikioti, S, Doumas, M, Douma, S, Petidis K, Karagiannis A, Balaska K, Vyzantiadis, A, Zamboulis, C. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism is not related to essential hypertension in a Greek population. *Am. J. Hypertens* 1996, 9:700-702.



20. Glavnik N, Petrovic D. M235T Polymorphism of the Angiotensinogen Gene and Insertion/Deletion Polymorphism of the Angiotensin-1 Converting Enzyme Gene in

Essential Arterial Hypertension in Caucasians. *Folia Biologica* 2007,53:69-70.

1.6

Μελέτη της σχέσης μεταξύ των επιπέδων θυρεοειδικής ορμόνης στο αίμα και δεικτών καρδιακής λειτουργικότητας σε ασθενείς με χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια και σε επίμυες με έμφραγμα του μυοκαρδίου.

Τσιναράκης Νικόλαος¹, Λειβαδάρου Ελευθερία¹, Μουρούζης Ιορδάνης², Πάντος Κωνσταντίνος², Δρακούλης Νικόλαος¹

¹Τμήμα Φαρμακευτικής, Τομέας Φαρμακοκευτικής Τεχνολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

²Εργαστήριο Πειραματικής Φαρμακολογίας, Μορφολειτουργικός Τομέας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Κατά τη διάρκεια έναρξης της καρδιακής ανεπάρκειας, παρουσιάζεται εκτεταμένη αναδιαμόρφωση του μυοκαρδίου, συνοδευόμενη από μεταβολές στην έκφραση των λειτουργικών και δομικών πρωτεϊνών του μυοκαρδίου προς την κατεύθυνση του εμβρυϊκού φαινοτύπου. Μπορεί να υποθεθεί ότι οι μεταβολές αυτές οφείλονται σε αλλαγές στο σύστημα των θυρεοειδικών ορμονών, καθώς το καρδιαγγειακό σύστημα φαίνεται να επηρεάζεται από τις θυρεοειδικές ορμόνες μέσω πυρηνικών υποδοχέων που ρυθμίζουν την έκφραση των πρωτεϊνών του μυοκαρδίου. Η παρούσα εργασία μελετά τη σχέση μεταξύ των επιπέδων θυρεοειδικής ορμόνης στο αίμα σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια και τη λειτουργία του μυοκαρδίου όπως αυτή εκτιμάται υπερηχογραφικά. Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκε ένα πειραματικό μοντέλο καρδιακής ανεπάρκειας σε επίμυες για να ελεγχθεί η υπόθεση ότι η χορήγηση θυρεοειδικής ορμόνης σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια μπορεί συνδράμει θεραπευτικά, αναστρέφοντας την καρδιακή αναδιαμόρφωση. Στην κλινική μελέτη, συμπεριλήφθησαν 45 ασθενείς. Η λειτουργικότητα του μυοκαρδίου εκτιμήθηκε υπερηχογραφικά και ολικές T₃, T₄ και η TSH μετρήθηκαν στον ορό. Βρέθηκε ότι η ολική T₃ έχει ισχυρή συσχέτιση με το κλάσμα εξώθησης (EF%) (r=0,51, p=0,00037). Ασθενέστερη αλλά σημαντική συσχέτιση βρέθηκε επίσης μεταξύ ολικής T₃ και μεγέθους αριστερού κόλπου (LA) (r=-0,35, p=0,028). Στην πειραματική μελέτη, συμπεριλήφθηκαν 27 αρσενικοί επίμυες. Η

λειτουργικότητα του μυοκαρδίου εκτιμήθηκε υπερηχογραφικά και οι ολικές T₃, T₄ και η TSH μετρήθηκαν στον ορό. Σε ένα μικρό κομμάτι ιστού της αριστερής κοιλίας κάθε δείγματος, προσδιορίστηκαν με ηλεκτροφόρηση τα επίπεδα των δύο ισομορφών της μυοσίνης, MHCα MHCβ. Η μέση τιμή της εσωτερικής διαμέτρου αριστερής κοιλίας, LVIDs, της ομάδας AMI-Thyr βρέθηκε να είναι σημαντικά μικρότερη από εκείνη της ομάδας AMI. Μία σημαντική αύξηση του κλάσματος εξώθησης αριστερής κοιλίας, LVEF%, της ομάδας AMI-Thyr σε σχέση με την ομάδα AMI παρατηρήθηκε επίσης (p<0.05). Η ταχύτητα συστολής του οπίσθιου τοιχώματος, SVPW, βρέθηκε αυξημένη στην AMI-Thyr ομάδα σε σύγκριση με τις δύο άλλες ομάδες (p<0.05). Κατά την 13η εβδομάδα παρατηρήθηκε μια σημαντική μείωση της καρδιακής λειτουργίας στους επίμυες της ομάδας AMI. Σε αντίθεση, σημειώθηκαν φυσιολογικές τιμές συσταλτικότητας στους επίμυες της ομάδας AMI-Thyr (p<0.05). Τέλος, η χορήγηση θυρεοειδικής ορμόνης προκάλεσε μεταβολή στην έκφραση των ισομορφών της μυοσίνης. Παρατηρήθηκε μία στατιστικά σημαντική αύξηση στην MHCα ισομορφή έναντι της MHCβ ισομορφής (p<0.05).

Βιβλιογραφία

1. Klein I, Ojamaa K. Thyroid hormone and the cardiovascular system. *New England Journal of Medicine* 2001;344(7):501-509.
2. Pantos C, Malliopoulou V, Varonos DD, Cokkinos DV. Thyroid hormone and



- phenotypes of cardioprotection. *Basic Research in Cardiology* 2004;99(2):101-120.
3. Ascheim DD, Hryniewicz K. Thyroid hormone metabolism in patients with congestive heart failure: the low triiodothyronine state. *Thyroid* 2002;12(6):511-515.
 4. Manowitz N, Mayor G, Klepper M, DeGroot L. Subclinical Hypothyroidism and Euthyroid Sick Syndrome in Patients with Moderate-to-Severe Congestive Heart Failure. *American Journal of Therapeutics* 1996;3(12):797-801.
 5. Pingitore A, Landi P, Taddei MC, Ripoli A, L'Abbate A, Iervasi G. Triiodothyronine levels for risk stratification of patients with chronic heart failure. *American Journal of Medicine* 2005;118(2):132-136.
 6. Kinugawa K, Yonekura K, Ribeiro RC, Eto Y, Aoyagi T, Baxter JD, Camacho SA, Bristow MR, Long CS, Simpson PC. Regulation of thyroid hormone receptor isoforms in physiological and pathological cardiac hypertrophy. *Circulation Research* 2001; 89(7):591-598.
 7. Pantos C, Mourouzis I, Saranteas T, Paizis I, Xinaris C, Malliopolou V, Cokkinos DV. Thyroid hormone receptors $\alpha 1$ and $\beta 1$ are downregulated in the post-infarcted rat heart: consequences on the response to ischaemia-reperfusion. *Basic Research in Cardiology* 2005;100(5):422-432.
 8. Pantos C, Mourouzis I, Xinaris C, Kokkinos AD, Markakis K, Dimopoulos A, Pana-giotou M, Saranteas T, Kostopanagiotou G, Cokkinos DV. Time-dependent changes in the expression of thyroid hormone receptor alpha 1 in the myocardium after acute myocardial infarction: possible implications in cardiac remodelling. *European Journal of Endocrinology* 2007;156(4):415-424.
 9. D'Amati G, di Gioia CR, Mentuccia D, Pistilli D, Proietti-Pannunzi L, Miraldi F, Gallo P, Celi FS. Increased expression of thyroid hormone receptor isoforms in end-stage human congestive heart failure. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2001;86(5):2080-2084.

1.7

Μελέτη της σχέσης μεταξύ των επιπέδων θυρεοειδικής ορμόνης στο αίμα και των δεικτών της καρδιοαναπνευστικής δοκιμασίας κόπωσης σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια.

Λειβαδάρου Ελευθερία¹, Πάντος Κωνσταντίνος², Μουρούζης Ιορδάνης², Τσινάρκης Νικόλαος¹, Δρακούλης Νικόλαος¹

¹ Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

² Εργαστήριο Πειραματικής Φαρμακολογίας, Μορφολειτουργικός Τομέας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Προηγούμενες πειραματικές μελέτες παρείχαν αποδείξεις που δείχνουν ότι οι μεταβολές στη σηματοδότηση της θυρεοειδούς ορμόνης αντιστοιχούν σε μεταβολές λειτουργίας του μυοκαρδίου σε ζωικά μοντέλα καρδιακής ανεπάρκειας. Η παρούσα μελέτη διερευνά περαιτέρω κατά πόσον οι μεταβολές των θυρεοειδικών ορμονών συσχετίζονται με τη λειτουργική κατάσταση του μυοκαρδίου σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια. Η παρούσα μελέτη συμπεριέλαβε 37 ασθενείς με διατακτική μυοκαρδιοπάθεια. Το θυρεοειδικό προφίλ, συμπεριλαμβανομένων των μετρήσεων των T_3 , T_4 και TSH, μελετήθηκε σε όλους τους ασθενείς που υποβλήθηκαν επίσης σε καρδιοαναπνευστική δοκιμασία κόπωσης, για να αξιολογηθεί η ικανότητα άσκησής τους με τη μέτρηση της μέγιστης κατανάλωσης οξυγόνου (VO_2max). Συνεχείς μεταβλητές (T_3 , T_4 και TSH) εισήχθησαν στην

πολλαπλή γραμμική ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης χρησιμοποιώντας μια σταδιακή μέθοδο για τον εντοπισμό δυνητικών ανεξάρτητων προγνωστικών παραγόντων της VO_2max . Παρατηρήθηκε ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της ολικής T_3 και της μέγιστης κατανάλωσης οξυγόνου ($r = 0,78$, $p = 2 \times 10^{-8}$) και η μεταβλητότητα στις τιμές της VO_2max μπορούσε να εξηγηθεί σχεδόν στο 61% των περιπτώσεων από αλλαγές στις τιμές της T_3 . Επιπλέον, η πολυπαραγοντική ανάλυση έδειξε ότι η συνολική T_3 ήταν ο ισχυρότερος ανεξάρτητος καθοριστικός παράγοντας της VO_2max . Η παρούσα μελέτη παρέχει πρόσθετες αποδείξεις για τον σημαντικό ρόλο της ολικής T_3 στην απόδοση κατά την καρδιοαναπνευστική δοκιμασία κόπωσης ασθενών με καρδιακή ανεπάρκεια. Συμπερασματικά, οι αλλαγές στα επίπεδα των ορμονών του θυρεοειδούς φαίνεται να



συσχετίζονται στενά με τη λειτουργική κατάσταση του μυοκαρδίου σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια. Αυτό το εύρημα είναι σε συμφωνία με τις πειραματικές παρατηρήσεις που υποστηρίζουν σθεναρά έναν δυνητικό ρόλο της θυρεοειδικής ορμόνης στην παθοφυσιολογία της καρδιακής ανεπάρκειας.

Βιβλιογραφία

- 1 Klein I & Ojamaa K. Thyroid hormone and the cardiovascular system. *New England Journal of Medicine* 2001 344 501–509.
- 2 Pantos C, Malliopolou V, Varonos DD & Cokkinos DV. Thyroid hormone and phenotypes of cardioprotection. *Basic Research in Cardiology* 2004 99 101–120.
- 3 Ascheim DD & Hryniewicz K. Thyroid hormone metabolism in patients with congestive heart failure: the low triiodothyronine state. *Thyroid* 2002 12 511–515.
- 4 Pingitore A, Landi P, Taddei MC, Ripoli A, L'abbate A & Iervasi G. Triiodothyronine levels for risk stratification of patients with chronic heart failure. *American Journal of Medicine* 2005 118 132–136.
- 5 Schmidt-Ott UM & Ascheim DD. Thyroid hormone and heart failure. *Current Heart Failure Reports* 2006 3 114–119.
- 6 Cohn JN, Johnson GR, Shabetai R, Loeb H, Tristani F, Rector T, Smith R & Fletcher R. Ejection fraction, peak exercise oxygen consumption, cardiothoracic ratio, ventricular arrhythmias, and plasma norepinephrine as determinants of prognosis in heart failure. The V-HeFT VA Cooperative Studies Group. *Circulation* 1993 87 VI5–VI16.
- 7 O'Neill JO, Young JB, Pothier CE & Lauer MS. Peak oxygen consumption as a predictor of death in patients with heart failure receiving beta-blockers. *Circulation* 2005 111 2313–2318.
- 8 Belke DD, Gloss B, Swanson EA & Dillmann WH. AAV-mediated expression of thyroid hormone receptor isoforms a1 and b1 improves contractile function in pressure overload-induced cardiac hypertrophy. *Endocrinology*, 2007.
- 9 Kinugawa K, Yonekura K, Ribeiro RC, Eto Y, Aoyagi T, Baxter JD, Camacho SA, Bristow MR, Long CS & Simpson PC. Regulation of thyroid hormone receptor isoforms in physiological and pathological cardiac hypertrophy. *Circulation Research* 2001 89 591–598.
- 10 Pantos C, Mourouzis I, Saranteas T, Paizis I, Xinaris C, Malliopolou V & Cokkinos DV. Thyroid hormone receptors a1 and b1 are downregulated in the post-infarcted rat heart: consequences on the response to ischaemia-reperfusion. *Basic Research in Cardiology* 2005 100 422–432.
- 11 Pantos C, Mourouzis I, Xinaris C, Kokkinos AD, Markakis K, Dimopoulos A, Panagiotou M, Saranteas T, Kostopanagiotou G & Cokkinos DV. Time-dependent changes in the expression of thyroid hormone receptor a1 in the myocardium after acute myocardial infarction: possible implications in cardiac remodelling. *European Journal of Endocrinology* 2007 156 415–424.
- 12 Weber KT, Kinasewitz GT, Janicki JS & Fishman AP. Oxygen utilization and ventilation during exercise in patients with chronic cardiac failure. *Circulation* 1982 65 1213–1223.
- 13 Mancini DM, Eisen H, Kussmaul W, Mull R, Edmunds LH, Jr & Wilson JR. Value of peak exercise oxygen consumption for optimal timing of cardiac transplantation in ambulatory patients with heart failure. *Circulation* 1991 83 778–786.



Λοιμώξεις

2.1

Πολυμορφισμοί του γονιδίου NRAMP1 και φυματίωση στον Ελληνικό πληθυσμό

Στάγκας Μάριος Κ¹, Παπαέτης Γεώργιος Σ², Ορφανίδου Δώρα², Κωστόπουλος Χαράλαμπος³, Reczko Martin⁴, Δρακούλης Νικόλαος⁵

¹ Μικροβιολογικό Εργαστήριο Γενικού Νοσοκομείου Νοσημάτων Θώρακος «ΣΩΤΗΡΙΑ»

² Γ' Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική Νοσοκομείου Νοσημάτων Θώρακος «ΣΩΤΗΡΙΑ»

³ Τμήμα Κλινική Θεραπευτικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

⁴ Τμήμα Στατιστικής, Ινστιτούτο Βιοϊατρικής Έρευνας Αλέξανδρος Φλέμιγκ

⁵ Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Υπάρχουν πολλές ενδείξεις ότι γενετικοί παράγοντες επηρεάζουν την ευπάθεια του ανθρώπου στη φυματίωση. Το γονίδιο NRAMP1 (natural-resistance-associated macrophage protein 1) είναι ένας παράγοντας που παίζει ρόλο στην παθοφυσιολογία διάφορων λοιμωδών νοσημάτων μεταξύ των οποίων είναι και η φυματίωση. Σκοπός της μελέτης είναι να εκτιμήσουμε κατά πόσο οι πολυμορφισμοί του γονιδίου NRAMP1 μπορούν να θεωρηθούν σαν ένας παράγοντας αυξημένου κινδύνου για εξέλιξη της λανθάνουσας μυκοβακτηριδιακής λοίμωξης σε ενεργό νόσο στον Ελληνικό πληθυσμό.

Υλικά και Μέθοδος: Εκατόν σαράντα δυο (142) ανοσοεπαρκείς ασθενείς ελληνικής καταγωγής με ενεργό φυματίωση και εκατόν σαράντα τέσσερις (144) μάρτυρες αποτέλεσαν το υλικό αυτής τη μελέτης σε τρεις πολυμορφισμούς του γονιδίου NRAMP1 (3'UTR, D543N, INT4). Ασθενείς θετικοί στον HIV αποκλείστηκαν από τη μελέτη.

Αποτελέσματα: Από τους τρεις πολυμορφισμούς του γονιδίου NRAMP1, ο INT4 έχει αυξημένη συχνότητα εμφάνισης στους ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες. Οι ομοζυγώτες CC του πολυμορφισμού INT4 εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο να προσβληθούν από το μυκοβακτηρίδιο σε σχέση με τους GG ομοζυγώτες ($p=0.022$). Στους άλλους δυο πολυμορφισμούς (D543N και 3'UTR) δεν βρέθηκαν διαφορές ανάμεσα σε ασθενείς και μάρτυρες.

Συμπέρασμα: Ο πολυμορφισμός INT4/NRAMP1 μπορεί να θεωρηθεί σαν ένας πιθανός παράγοντας κινδύνου για ανάπτυξη

ενεργού πνευμονικής φυματίωσης μετά από μια λανθάνουσα μυκοβακτηριδιακή λοίμωξη. Στην ομάδα των ασθενών βρέθηκε αυξημένη συχνότητα του γονότυπου G/TGTG/C. Η έκφραση G/TGTG/C, συγκριτικά με την G/TGTG/G σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της φυματίωσης της τάξης του 36% ($p=0.004$).

Βιβλιογραφία

1. Al-Tawfiq JA. Multifocal systemic tuberculosis: the many faces of an old nemesis. *Med Sci Monit* 2007; 13: CS56-60
2. WHO Report 2009 Global Tuberculosis Control. A short update to the 2009 report
3. Papaetis GS, Pefanis A, Solomon S, Tsangarakis I, Orphanidou D, Achimastos A. Asymptomatic stage-I sarcoidosis complicated by pulmonary tuberculosis: a case report. *J Med Case Reports* 2008; 2: 226.
4. Samara I, Bakakos P, Orphanidou D, et al. Sputum adenosine deaminase activity in patients with pulmonary tuberculosis and lung cancer. *Adv Clin Exp Med* 2007; 16: 533-535.
5. Murray CJ, Styblo K, Rouillon A. Tuberculosis in developing countries: burden, intervention and cost. *Bull IUATLD* 1990; 65: 6-24
6. Güneylioglu D, Yilmaz A, Bilgin S, Bayram U, Akkaya E. Factors affecting delays in diagnosis and treatment of pulmonary tuberculosis in a tertiary care hospital in Istanbul, Turkey. *Med Sci Monit* 2004; 10: CR62-7.
7. Skyba P, Kluchova Z, Joppa P, Petrasova D, Tkacova R. Nutritional status in relation to respiratory impairment and systemic inflammation in patients with acute exacerbations of COPD. *Med Sci Monit* 2009; 15: CR 528 – 533.



8. Comstock GW. Tuberculosis in twins: a re-analysis of the Proffit survey. *Am Rev Respir Dis* 1978; 117: 621-624.
9. Gros P, Skamene E, Forget A. Genetic control of natural resistance to *Mycobacterium bovis* (BCG) in mice. *J Immunol* 1981; 127: 2417-21.
10. Cellier M, Govoni G, Vidal S, *et al.* Human natural resistance-associated macrophage protein: cDNA cloning, chromosomal mapping, genomic organization, and tissue-specific expression. *J Exp Med* 1994; 180: 1741-52.
11. Søbørg C, Andersen AB, Madsen HO, Kok-Jensen A, Skinhøj P, Garred P. Natural resistance-associated macrophage protein 1 polymorphisms are associated with microscopy-positive tuberculosis. *J Infect Dis* 2002; 186: 517-21.
12. Zhang W, Shao L, Weng X, *et al.* Variants of the natural resistance-associated macrophage protein 1 gene (NRAMP1) are associated with severe forms of pulmonary tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 1232-6.
13. Liu J, Fujiwara TM, Buu NT, *et al.* Identification of polymorphisms and sequence variants in the human homologue of the mouse natural resistance-associated macrophage protein gene. *Am J Hum Genet* 1995; 56: 845-853.
14. Li HT, Zhang TT, Zhou YQ, Huang QH, Huang J. SLC11A1 (formerly NRAMP1) gene polymorphisms and tuberculosis susceptibility: a meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2006; 10: 3-12.
15. Stead WW. Genetics and resistance to tuberculosis. Could resistance be enhanced by genetic engineering? *Ann Intern Med* 1992; 116: 937-941.

2.2

Εξάλειψη δυνητικά παθογόνων βακτηρίων της χλωρίδας του στόματος με χρήση χαμηλής ροής απολύμανσης με όζον υψηλής συγκεντρώσεως

Πουλής Νικόλαος¹, Κυριακού Αδαμαντίνη², Κώτσου Μαρία², Δρακούλης Νικόλαος¹

¹Τμήμα Φαρμακευτικής, Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

²Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Η απολύμανση των οδοντιατρικών αποτυπωτικών υλικών για τη διασφάλιση μη διασταυρούμενης μόλυνσης από δυνητικά παθογόνα βακτήρια της χλωρίδας του στόματος πραγματοποιείται στην καθημερινή οδοντιατρική πράξη με υγρά απολυμαντικά διαλύματα. Η χρήση χαμηλής ροής απολύμανσης με όζον υψηλής συγκεντρώσεως χρησιμοποιήθηκε, μέσω μιας πρωτότυπης συσκευής, με σκοπό να εξαλειφθούν τα προβλήματα μεταβολής διαστάσεων των αποτυπωτικών υλικών που παρουσιάζονται με την υγρή απολύμανση. Οδοντιατρική λεπτόρρευστη σιλικόνη προσθήκης εμβολιάστηκε με υγρές καλλιέργειες των αντιπροσωπευτικών gram (-) και gram (+) βακτηρίων *Klebsiella pneumoniae* και *Staphylococcus aureus* αντίστοιχα, δισκία των 13mm απεκόπησαν και απολυμάνθηκαν με όζον σε διάφορους χρόνους. Η επιτυχία της απολυμάνσεως εξετάστηκε χρησιμοποιώντας τη μέθοδο των βιώσιμων αναπαραγωγικών μονάδων. Η εκκρίωση των βακτηρίων ήταν

μεγαλύτερη του 99%. Παρόλη την αναπόφευκτη ανομοιόμορφη κατανομή των βακτηρίων πάνω στο αποτυπωτικό υλικό και την ικανότητα τους να αντιστέκονται στην οξειδωτική δράση του όζοντος όταν είναι συνωστισμένα, οι διακυμάνσεις στην εκκρίωση των μικροβίων ήταν ελάχιστες και στο σύνολο των πειραμάτων δεν αναίρεσαν την, τελικά, αποτελεσματική βακτηριοκτόνο δράση του όζοντος, ανοίγοντας τον δρόμο για ένα νέο, γρήγορο, ασφαλή και αποτελεσματικό τρόπο απολύμανσης των οδοντιατρικών αποτυπωμάτων. Η προσδοκώμενη μη μεταβολή διαστάσεων των αποτυπωτικών υλικών σε προσεχή πειράματα μπορεί να αναδείξει αυτή τη μέθοδο απολύμανσης εξαιρετικά καινοτόμο στο χώρο της Οδοντιατρικής Προσθετικής.

Βιβλιογραφία

- 1 Elford WJ, Van den Ende J. An investigation of the merits of ozone as an aerial disinfectant. *Journal of Hygiene*, 1942; 42:240-265.



- 2 Greenwood NN, Earnshaw A. Chemistry of the elements., Reed Educational and Professional Publishing Ltd, Second Edition, Oxford, 1997, 607-611.
- 3 Park SL, Moon JD, Lee SH, Shin SY. Effective ozone generation utilizing a meshed-plate electrode in a dielectric-barrier discharge type ozone generator. Journal of electrostatics, 2006; 64:275-282
- 4 Azarpazhooh A, Limeback H. The application of ozone in dentistry: A systematic review of literature. Journal of Dentistry, 2008; 36:104-116
- 5 Ishizaki K, Sawadaishi K, Miura K, Shinriki N. Effect of ozone on plasmid DNA of *Escherichia coli*. Water Research, 1987; 21:823-827
- 6 Shin GA, Sobsey MD. Reduction of Norwalk virus, Poliovirus 1, Bacteriophage MS2 by ozone disinfection of water. Applied and environmental microbiology, 2003; 69:3975-3978
- 7 Cataldo F. DNA degradation with ozone. International Journal of Biological Macromolecules, 2006; 38:248-254
- 8 Martin N, Martin MV, Jedynakiewicz NM. The dimensional stability of dental impression materials following immersion in disinfecting solutions. Dental Materials, 2007; 23:760-768
- 9 Ayliffe GAJ, Babb JR, Davies JG, Lilly HA. Hand disinfection: a comparison of various agents in laboratory and ward studies. Journal of Hospital Infection, 1988; 11:226-243
- 10 Kowalski WJ, Bahnfleth WP, Striebig BA, Whittam TS. Demonstration of a hermetic airborne ozone disinfection system: studies on *E. coli*. AIHA Journal, 2003; 64:222-227
- 11 Kowalski WJ, Bahnfleth WP, Whittam TS. Bactericidal effects of high airborne ozone concentrations on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Ozone Science and Engineering, 1998; 20:205-221



Μεταβολικό Σύνδρομο - Διατροφή – Άσθμα

3.1

Συχνότητα των πολυμορφισμών rs1800795 (*IL6*), rs2303067 (*SPINK5*), rs1800629 (*TNF-α*), rs7216389 (*ORMDL3*), και συσχετισμός τους με την προδιάθεση εμφάνισης άσθματος σε δείγμα ελληνικού πληθυσμού.

Θωμά Έφη¹, Πρίνου Αικατερίνη², Δρακούλης Νικόλαος²

¹ Τομέας Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

² Κλινική Φαρμακευτική, Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Το άσθμα είναι μια χρόνια φλεγμονή των αεροφόρων οδών, στην οποία διαδραματίζουν ουσιαστικό ρόλο κύτταρα όπως τα σιτεντικά, τα ηωσινόφιλα και τα Τ λεμφοκύτταρα. Κλινικά, η φλεγμονή αυτή εκδηλώνεται με επαναλαμβανόμενα επεισόδια συρίτουςας αναπνοής, δύσπνοιας, βήχα και αισθήματος πίεσης στο στήθος. Το άσθμα είναι μια πολυπαραγοντική νόσος που οφείλεται στην επίδραση γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Στην παρούσα μελέτη, διερευνάται η συχνότητα γενετικών πολυμορφισμών των γονιδίων *IL6* (rs1800795), *SPINK5* (rs2303067), *TNF-α* (rs1800629) και *ORMDL3* (rs7216389) και η συσχέτισή τους με την εμφάνιση άσθματος σε δείγμα ελληνικού πληθυσμού. Ο υπό μελέτη πληθυσμός αποτελείται από 772 εθελοντές, 363 άνδρες και 409 γυναίκες, καυκάσιοι Ελληνικής καταγωγής. Η εξαγωγή του γενετικού υλικού έγινε από επιθηλιακά κύτταρα της στοματικής κοιλότητας και η ανίχνευση των πολυμορφισμών πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (rtPCR). Στον πολυμορφισμό rs1800795 (*IL6*) παρατηρήθηκαν 75,5% αρχέγονα αλληλόμορφα G και 24,5% μεταλλαγμένα αλληλόμορφα C. Στον πολυμορφισμό rs2303067 (*SPINK5*) παρατηρήθηκαν 53,8% φυσιολογικά αλληλόμορφα A και 46,2% μεταλλαγμένα G. Στον πολυμορφισμό rs1800629 (*TNF-α*) παρατηρήθηκαν 92% αρχέγονα αλληλόμορφα G και 8% μεταλλαγμένα αλληλόμορφα A. Τέλος, στον πολυμορφισμό rs7216389 (*ORMDL3*) εντοπίστηκαν 46,8% φυσιολογικά αλληλόμορφα C και 53,2% μεταλλαγμένα αλληλόμορφα T. Η μελέτη αυτή απέδειξε τη

σπανιότητα των γονοτύπων που προδιαθέτουν στην εμφάνιση άσθματος στο γενικό πληθυσμό. Όσον αφορά στη διάκριση σε άνδρες και γυναίκες δεν φαίνεται να υπάρχει συσχέτιση της συχνότητας εμφάνισης του πολυμορφισμού με το φύλο. Επιπλέον, μελέτες θα αναδείξουν τη σημασία των πολυμορφισμών αυτών σε πληθυσμό που πάσχει από βρογχικό άσθμα ή χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ).

Βιβλιογραφία

1. Πατάκας Δ. Επίτομη Πνευμονολογία. University studio press.2006:13:197-221
2. Seaton A., Seaton D., Leitch G. Νοσήματα του αναπνευστικού 945-1060
3. Αρβανίτη Φ. Επιδημιολογία άσθματος στην παιδική ηλικία: Ο ρόλος της διατροφής. Αθήνα 2011
4. Djukanovic R, Roche WR, Wilson JW et al. Mucosal inflammation in Asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990;142:434- 57
5. Bleeker ER et al. *Am J Respir Crit Care* 1997;156(4):S113-S116
6. Moffatt MF, Cookson WOCM, *Am J Respir Crit Care* 1997;1156(4):S110-S112
7. Cox AJ, Gleeson M, Pyne DB, Callister R, Fricker PA and Scott RJ. Cytokine gene polymorphisms and risk for upper respiratory symptoms in highly-trained athletes. *Exerc Immunol Rev* 16: 8-21, 2010
8. Harriet Corvol, Anthony De Giacomo, Celeste Eng, Max Seibold, Elad Ziv, Rocio Chapela, Jose R. Rodriguez-Santana, William Rodriguez-Cintron, Shannon Thyne, H. Geoffrey Watson, Kelley Meade, Michael LeNoir, Pedro C. Avila, Shweta Choudhry, and Esteban Gonzalez Burchard: Genetic ancestry modifies pharmacogenetic gene-gene interaction for asthma, *Pharmacogenet Genomics*. 2009 July; 19(7): 489-496.



9. Neveu WA, Allard JL, Raymond DM, Bourassa LM, Burns SM, Bunn JY, Irvin CG, Kaminsky DA, Rincon M, Elevation of IL-6 in the allergic asthmatic airway is independent of inflammation but associates with loss of central airway function, *Respir Res.* 2010 Mar 8;11:28
10. Kamimura D, Ishihara K, Hirano T. IL-6 signal transduction and its physiological roles: the signal orchestration model. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology.* 2003;149:1–38
11. Pasare C, Medzhitov R. Toll pathway-dependent blockade of CD4+CD25+ T cell-mediated suppression by dendritic cells. *Science (New York, NY)* 2003; 299 (5609): 1033–1036
12. Alison M. Morris, Leonie K. Heilbronn a, Manny Noakes, Karen L. Kind, Peter M. Clifton.-308 Nco I Polymorphism of tumor necrosis factor a on overweight Caucasians, *Diabetes Research and Clinical Practice* 62(2003) 197-201
13. The TNF Superfamily. *Cytokine and growth factor reviews* 14(1003) 181-184
14. Lionel B. Ivashkiv. The history, Basic science and biology of TNF-a. 2003.
15. Kusunoki, T. et al. SPINK5 polymorphism is associated with disease severity and food allergy in children with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 115, 636-8
16. Kato, A. et al. Association of SPINK5 gene polymorphisms with atopic dermatitis in the Japanese population. *Br J Dermatol* 148, 665-9 (2003).
17. Walley, A.J. et al. Gene polymorphism in Netherton and common atopic disease. *Nat Genet* (2001)29, 175-8.
18. He, M.M., Smith, A.S., Oslob, J.D., Flanagan, W.M., Braisted, A.C., Whitty, A., Cancilla, M.T., Wang, J., Lugovskoy, A.A., Yoburn, J.C., Fung, A.D., Farrington, G., Eldredge, J.K., Day, E.S., Cruz, L.A., Cachero, T.G., Miller, S.K., Friedman, J.E., Choong, I.C., Cunningham, B.C. Small-molecule inhibition of TNF-alpha. *Science* v310 pp.1022-1025, 2005
19. Rui Jin, Hua-Guo Xu, Wen-Xiao Yuan, Li-Li Zhuang, Li Jiang, Liang-Hua Zhu, Jia-Yin Liu, Guo-Ping Zhou. Mechanisms elevating ORMDL3 expression in recurrent wheeze patients: role of Ets-1, p300 and CREB. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* (April 2012)

3.2

Επιπολασμός πολυμορφισμών των γονιδίων TCF7L2, MTNR1B, CDKAL1, SLC30A8 και FTO που προδιαθέτουν σε Σακχαρώδη Διαβήτη Τύπου 2 και/ή Παχυσαρκία στον Ελληνικό πληθυσμό.

Γουρζή Στεφανία-Φιλώ, Τεντολούρης Κωνσταντίνος, Δρακούλης Νικόλαος

Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου II είναι μια χρόνια μεταβολική νόσος με πανδημική εξάπλωση παγκοσμίως. Στην παθογένεια της νόσου περιλαμβάνονται περιβαλλοντικές επιδράσεις και το γενετικό υπόβαθρο. Περισσότερες από 40 ύποπτες γονιδιακές θέσεις έχουν συσχετιστεί με τον κίνδυνο εκδήλωσης ΣΔτ2. Η συσχέτιση εκφράζεται μέσω συχνών, μη διεισδυτικών SNPs. Τέσσερα από αυτά (rs7903146, rs10830963, rs7756992, rs13266634) μελετήθηκαν σε δείγμα ελληνικού πληθυσμού και βρέθηκε ότι πρόκειται για συχνούς πολυμορφισμούς με τη συχνότητα των φερόμενων ως επικίνδυνων αλληλόμορφων να κυμαίνεται από 25% έως 70%. Δεν διαπιστώθηκαν διαφορές στις συχνότητες ανάμεσα στα δύο φύλα τόσο σε

επίπεδο γονότυπων όσο και σε επίπεδο αλληλόμορφων.

Η παχυσαρκία είναι επίσης μια χρόνια νόσος και αποτελεί το σημαντικότερο παράγοντα κινδύνου εκδήλωσης Σακχαρώδη Διαβήτη Τύπου 2 (ΣΔτ2). Πολλά SNPs έχουν συσχετιστεί με την παχυσαρκία. Από αυτούς ο rs9939609 στο FTO που μελετήσαμε στο ίδιο δείγμα είναι αρκετά συχνός (44% συχνότητα A), χωρίς διαφορές στα δύο φύλα, και έχει συσχετιστεί και με το ΣΔτ2 αν και είναι ακόμα άγνωστο εάν η συσχέτιση είναι ανεξάρτητη ή ασκείται μέσω της παχυσαρκίας.

Παρόλο που η γενετική βάση του ΣΔτ2 και της παχυσαρκίας είναι πλέον αποδεδειγμένη, δεν έχει δυστυχώς μεταφερθεί ακόμη στην καθημερινή κλινική πράξη. Ωστόσο, είναι



αναμενόμενο τα επόμενα χρόνια να συνεισφέρει σημαντικά στην πρόληψη, τη διάγνωση και τη θεραπεία αυτών των πολύ συχνών νοσημάτων.

Βιβλιογραφία

1. Holt RIG. Textbook of diabetes. 4th ed. Chichester, West Sussex ; Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell; 2010.
2. Katsilambros N. Diabetes in clinical practice : questions and answers from case studies. Chichester: John Wiley; 2006.
3. Standards of medical care in diabetes--2012. Diabetes care 2012;35 Suppl 1:S11-63.
4. McCarthy MI. Genomics, type 2 diabetes and obesity. N Engl J Med 2010;363:2339-50.
5. Ahlqvist E, Ahluwalia TS, Groop L. Genetics of type 2 diabetes. Clin Chem 2011;57:241-54.
6. Duval A, Rolland S, Tubacher E, Bui H, Thomas G, Hamelin R. The human T-cell transcription factor-4 gene: structure, extensive characterization of alternative splicings, and mutational analysis in colorectal cancer cell lines. Cancer research 2000;60:3872-9.
7. Shu L, Sauter NS, Schulthess FT, Matveyenko AV, Oberholzer J, Maedler K. Transcription factor 7-like 2 regulates beta-cell survival and function in human pancreatic islets. Diabetes 2008;57:645-53.
8. Tong Y, Lin Y, Zhang Y, Yang J, Liu H, Zhang B. Association between TCF7L2 gene polymorphisms and susceptibility to type 2 diabetes mellitus: a large Human Genome Epidemiology (HuGE) review and meta-analysis. BMC Med Genet 2009;10:15.
9. Langenberg C, Pascoe L, Mari A, et al. Common genetic variation in the melatonin receptor 1B gene (MTNR1B) is associated with decreased early-phase insulin response. Diabetologia 2009;52:1537-42.
10. Wei FY, Tomizawa K. Functional loss of Cdkal1, a novel tRNA modification enzyme, causes the development of type 2 diabetes. Endocr J 2011;58:819-25.
11. Chimienti F, Devergnas S, Favier A, Seve M. Identification and cloning of a beta-cell-specific zinc transporter, ZnT-8, localized into insulin secretory granules. Diabetes 2004;53:2330-7.
12. Sladek R, Rocheleau G, Rung J, et al. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. Nature 2007;445:881-5.
13. Cheung MK, Yeo GS. FTO Biology and Obesity: Why Do a Billion of Us Weigh 3 kg More? Front Endocrinol (Lausanne) 2011;2:4.
14. Meyre D. Is FTO a type 2 diabetes susceptibility gene? Diabetologia 2012;55:873-6.
15. <http://browser.1000genomes.org/index.html>. (Accessed at 24/05/2012)
16. Imamura M, Maeda S. Genetics of type 2 diabetes: the GWAS era and future perspectives [Review]. Endocr J 2011;58:723-39.
17. Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. Science 2007;316:889-94.

3.3

Μελέτη και Διερεύνηση του Συσχετισμού Πολυμορφισμών του TNF- α και της IL-6 σε Ασθενείς με Άσθμα και η Σημασία της Συνύπαρξης Διαβήτη Τύπου II

Σύκα Μαρία, Δρακούλης Νικόλαος

Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η Ιντερλευκίνη 6 (IL-6) είναι μία πλειοτροπική κυτταροκίνη με μέγεθος 21 – 30 kD που παράγεται από διάφορους τύπους κυττάρων και έχει σημαντικές βιολογικές δράσεις σε διάφορους κυτταρικούς πληθυσμούς. Σε συνδυασμό με τον διαλυτό υποδοχέα της (Sol-6Ra) καθορίζει την μετάβαση από την οξεία στην χρόνια φλεγμονή. Ο Παράγοντας Νέκρωσης Όγκων (TNF- α), είναι μία διαλυτή πρωτεΐνη μικρού

μεγέθους (17kD) που παράγεται κυρίως από τα ενεργοποιημένα μακροφάγα. Θεωρείται ίσως ο κύριος διαμεσολαβητής της οξείας φλεγμονώδους απόκρισης. Το άσθμα είναι μια χρόνια πάθηση που χαρακτηρίζεται από **φλεγμονή των βρόγχων** ενώ ο σακχαρώδης διαβήτης είναι μια παθολογική κατάσταση που χαρακτηρίζεται από υψηλά επίπεδα γλυκόζης στο αίμα. Σκοπός της μελέτης είναι να διερευνηθεί ο παθογενετικός μηχανισμός της



ταυτόχρονης ανάπτυξης άσθματος και σακχαρώδη διαβήτη τύπου II. Ιδιαίτερα στην ομάδα των ασθενών με άσθμα και σακχαρώδη διαβήτη τύπου II, θα διερευνηθεί η συχνότητα κατανομής πολυμορφισμών στους γονιδιακούς τόπους TNF- α και IL-6.

Τα αποτελέσματα που έχουν ανακτηθεί από τα πρώτα 94 άτομα ελέγχου και τους πρώτους 42 ασθενείς έδειξαν ότι τα επίπεδα της IL-6 και TNF- α στον ορό, δεν ήταν ανιχνεύσιμα στο 34,04% και 97,87, αντίστοιχα, των ατόμων ελέγχου. Ομοίως, για την ομάδα των ασθενών, το 83,33% των επιπέδων της IL-6 και το 80,95% των επιπέδων του TNF- α στον ορό, ήταν επίσης κάτω από το όριο ανίχνευσης. Η rtPCR αποκάλυψε ότι η κατανομή των γενετικών πολυμορφισμών στην ομάδα ελέγχου για την IL-6 είναι 6,38% C:C, 38,29% C:G, 55,33% G:G και για τον TNF- α , είναι 1,06% A : A, 14,89% G: A, 84,04% G:G. Η κατανομή των γενετικών πολυμορφισμών στην ομάδα των ασθενών είναι για την IL-6 4,76% C:C, 28,57% C:G, 66,66% G:G και για τον TNF- α , είναι 2,38% A:A, 14,29% G:A, 83,33% G:G. Και για τους δύο πολυμορφισμούς το αλληλομορφο G αντιπροσωπεύει τον αρχέγονο τύπο. Η παρούσα μελέτη είναι σε εξέλιξη και είναι πολύ νωρίς για να εξαχθούν συμπεράσματα που θα αναδείξουν το ρόλο της φλεγμονής στην παθογένεση του βρογχικού άσθματος και διαβήτη τύπου II, λόγω του πολύ μικρού αριθμού ασθενών και των μαρτύρων που έχουν εισαχθεί στη μελέτη.

Βιβλιογραφία

1. Ferguson-Smith AC, Chen YF, Newman MS, May LT, Sehgal PB, Ruddle FH (1988).

- Regional localization of the interferon-beta 2/B-cell stimulatory factor 2/hepatocyte stimulating factor gene to human chromosome 7p15-p21 Genomics 2 (3): 203–208.
2. S. Finotto, Mod. Asp. Immunobiol. 18, 7, 2006
3. Kristiansen OP, Mandrup-Poulsen T . Interleukin-6 and diabetes: the good, the bad, or the indifferent? Diabetes, 2005,54 Suppl 2: S114–24.
4. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=IL6> (2012)
5. Fishman D. The effect of novel polymorphism 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: 1369-1376.
6. Terry CF. Cooperative influence of genetic polymorphisms on interleukin-6 transcriptional regulation. J Biol Chem 2000; 275: 18138-18144.
7. Nedwin GE, Naykor SL, Sakaguchi AY, Smith D., Jarrett-Nedwin J. Pennica D., Goeddel DV, Gray PW (1985) Human lymphotoxin and tumor necrosis factor: genes, structure, homology and chromosomal localization. Nucleic Acids Res, 13 (17)
8. Kriegler M, Perez C, DeFay K, Albert I, Lu SD (1988) A novel form of TNF/cachectin is a cell surface cytotoxic transmembrane protein: ramifications for the complex physiology of TNF Cell 53 (1) 45-53.
9. Tang P, Hung MC, Klostergaard J “Human pro – tumor necrosis factor is a homotrimer” Biochemistry 1996, 35 (25): 8216 – 25
10. Old LJ “Tumor necrosis factor (TNF)” Science 1985, 230 (4726): 630-2. doi: 10.1126/science 2413547. PMID 241354
11. Harrison’s Principles of Internal Medicine, 14th edition, chapter 252, 334

3.4

Η Επίδραση των Πολυμορφισμών των Γονιδίων της Παχυσαρκίας στη Θεραπευτική Αντιμετώπιση της

Μπουτσουνής Κωνσταντίνος Π.¹, Λιάπη Χάρης¹, Δρακούλης Νικόλαος²

¹Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Μορφολειτουργικός Τομέας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

²Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Παχυσαρκία ορίζεται η υπερβολική συσσωρευση λίπους, που προκύπτει μετά από μία μακρόχρονη ανισορροπία μεταξύ πρόσληψης

και κατανάλωσης ενέργειας. Ζωικά μοντέλα της παχυσαρκίας έχουν διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην κατανόηση των



μοριακών μηχανισμών της. Γενετικοί παράγοντες παίζουν ρόλο και αλληλεπιδρούν με τους περιβαλλοντικούς παράγοντες που προκαλούν παχυσαρκία. Οι μελέτες δείχνουν ότι οι κληρονομικοί παράγοντες είναι υπεύθυνοι για το 30 – 50% της μεταβολής στο λιπώδη ιστό. Υπάρχουν πάνω από 30 γονίδια με πολυμορφισμούς που συνδέονται με την παχυσαρκία. Στην παρούσα εργασία διερευνάται η συχνότητα των γενετικών πολυμορφισμών των παρακάτω γονιδίων: RS4994 → ADRB3, RS1042713 → ADRB2, RS1042714 → ADRB2, RS1800544 → ADRA2A, RS1801252 → ADRB1, RS1801253 → ADRB1, RS1801282 → PPARγ2 και RS9939609 → FTO. Η μελέτη βρίσκεται σε εξέλιξη και τα παρακάτω αναφερόμενα αποτελέσματα αποτελούν τις πρώτες ενδείξεις. Ο πληθυσμός της μελέτης ανέρχεται, μέχρι στιγμής σε 32 εθελοντές (18 άνδρες και 14 γυναίκες), στους οποίους έχει υπολογιστεί ο δείκτης μάζας σώματος (BMI). Η συλλογή του γενετικού υλικού έγινε από επιθηλιακά κύτταρα της στοματικής κοιλότητας και η ανίχνευση των πολυμορφισμών πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης πραγματικού χρόνου. Τα πρώτα αποτελέσματα της κατανομής των μελετηθέντων πολυμορφισμών δεν φαίνεται να συμφωνούν με μελέτες σε άλλους πληθυσμούς, που αναφέρουν ότι οι πολυμορφισμοί αποτελούν προγνωστικό ή επιβαρυντικό δείκτη για ανάπτυξη παχυσαρκίας. Όμως, ο, μέχρι στιγμής, αριθμός των εθελοντών της παρούσας μελέτης είναι ιδιαίτερα μικρός για να εξαχθούν στατιστικά σημαντικά συμπεράσματα, λαμβάνοντας υπόψη, τη σημασία της αλληλεπίδρασης των γενετικών παραγόντων προδιάθεσης μεταξύ τους και με το περιβάλλον.

Βιβλιογραφία

1. Flatt JP Dietary fat, carbohydrate balance, and weight maintenance: effects of exercise. *Am J Clin Nutr* 1987 45:296-306
2. Haslam DW, James WP Obesity. *Lancet* 2005 366:1197-209
3. Bray, GA, Fisler, J, York, DA. Neuroendocrine control of the development of obesity: understanding gained from studies of experimental animal models. *Front Neuroendocrinology* 1990; 11:128
4. Berthoud HE, Morrison C. The brain, appetite, and obesity. *Annu Rev Psychol* 2008; 59:55
5. Mountjoy KG. Functions for pro-opiomelanocortin-derived peptides in obesity and diabetes. *Biochem J* 2010; 428:305
6. Licinio J, Caglayan S, Ozata M, et al. Phenotypic effects of leptin replacement on morbid obesity, diabetes mellitus, hypogonadism, and behavior in leptin-deficient adults. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101:4531
7. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372:425
8. Wardle J, Carnell S, Haworth CM, Plomin R. Evidence for a strong genetic influence on childhood adiposity despite the force of the obesogenic environment. *Am J Clin Nutr* 2008; 87:398
9. Pérusse L, Rankinen T, Zuberi A, et al. The human obesity gene map: the 2004 update. *Obes Res* 2005; 13:381
10. Cassidy SB, Driscoll DJ. Prader-Willi syndrome. *Eur J Hum Genet* 2009; 17:3
11. Bonaglia MC, Ciccone R, Gimelli G, et al. Detailed phenotype-genotype study in five patients with chromosome 6q16 deletion: narrowing the critical region for Prader-Willi-like phenotype. *Eur J Hum Genet* 2008; 16:1443
12. Crinò A, Schiaffini R, Ciampalini P, et al. Hypogonadism and pubertal development in Prader-Willi syndrome. *Eur J Pediatr* 2003; 162:327
13. Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science* 2007; 316:889
14. Loos RJ, Lindgren CM, Li S, et al. Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity. *Nat Genet* 2008; 40:768
15. Meyre D, Delplanque J, Chèvre JC, et al. Genome-wide association study for early-onset and morbid adult obesity identifies three new risk loci in European populations. *Nat Genet* 2009; 41:157
16. Benzinou M, Creemers JW, Choquet H, et al. Common nonsynonymous variants in PCSK1 confer risk of obesity. *Nat Genet* 2008; 40:943
17. Han JC, Liu QR, Jones M, et al. Brain-derived neurotrophic factor and obesity in the WAGR syndrome. *N Engl J Med* 2008; 359:918
18. El-Gharbawy AH, Adler-Wailes DC, Mirch MC, et al. Serum brain-derived neurotrophic factor concentrations in lean and overweight children and adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:3548



19. Herbert A, Gerry NP, McQueen MB, et al. A common genetic variant is associated with adult and childhood obesity. Science 2006; 312:279

20. Lyon HN, Emilsson V, Hinney A, et al. The association of a SNP upstream of INSIG2 with body mass index is reproduced in several but not all cohorts. PLoS Genet 2007; 3:e61

3.5

Εξατομικευμένη διατροφική αγωγή στη παχυσαρκία: Μεταφράζοντας την έρευνα της Διατροφογενετικής και της Διατροφογενωμικής σε διατροφικές οδηγίες

Ξένος Κωνσταντίνος, Δρακούλης Νικόλαος

Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η παχυσαρκία αποτελεί παγκόσμια ανησυχία για την υγεία του ανθρώπου. Ο υπερβάλλον λιπώδης ιστός είναι ένας σημαντικός προδιαθεσικός παράγοντας για σοβαρές παθήσεις, όπως ο διαβήτης τύπου 2, οι καρδιαγγειακές παθήσεις, τα εγκεφαλικά επεισόδια, κλπ. Περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως η υπερβολική κατανάλωση τροφής και άρα ενέργειας και ο καθιστικός τρόπος ζωής, έχουν συμβάλει σημαντικά στην αύξηση του επιπολασμού της παχυσαρκίας. Ωστόσο, η παχυσαρκία έχει και μια ισχυρή γενετική συνιστώσα που αλληλεπιδρά με το «παχυσαρκογόνο» περιβάλλον στο οποίο ζει ο άνθρωπος της Δυτικής κοινωνίας και επιτείνει το πρόβλημα.

Οι μελέτες σε διάφορους πληθυσμούς παρέχουν στοιχεία που υποδηλώνουν ότι οι γονιδιακές μεταλλάξεις και τα δεδομένα τους, επηρεάζουν τον τρόπο διαχείρισης του σωματικού βάρους. Παράλληλα, αρκετές μελέτες δείχνουν ότι το προφίλ της γονιδιακής έκφρασης επηρεάζεται από τη διατροφική παρέμβαση. Η ανασκόπηση της βιβλιογραφίας παρέχει επίσης ισχυρές ενδείξεις για τον ρόλο των κοινών γενετικών πολυμορφισμών στην απώλεια βάρους αλλά και στη προσπάθεια διατήρησης του απολεσθέντος βάρους. Αρκετοί πολυμορφισμοί υποψήφιων γονιδίων έχει δείχθει ότι επηρεάζουν τους φαινοτύπους που σχετίζονται με το βάρος ως απάντηση σε διάφορες δίαιτες. Ωστόσο, πολλές από τις θετικές συσχετίσεις που αναφέρονται στη βιβλιογραφία βασίζονται σε ένα σχετικά μικρό αριθμό ατόμων, και δεν έχουν όλα τα ευρήματα επαναληφθεί. Η ανάγκη για περισσότερες μελέτες και με μεγαλύτερο αριθμό ατόμων που θα διερευνούν τη όποια σχέση ειδικών διατροφικών παρεμβάσεων και

επιδράσεων τους σε συγκεκριμένους πολυμορφισμούς είναι σαφέστατα προφανής.

Βιβλιογραφία

1. International Obesity Task Force - the IASO/IOTF analysis (2010)
2. Choquet H, Meyre D. Genetics of Obesity: What have we Learned? Curr Genomics. 2011 May;12(3):169-79
3. Speliotes EK et al. Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index. Nat Genet 2010 Nov;42(11):937-48.
4. Scuteri A et al. Genome-wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are associated with obesity-related traits. PLoS Genet. 2007 Jul;3(7):e115.
5. Pichler M et al. Association of the melanocortin-4 receptor V103I polymorphism with dietary intake in severely obese persons. Am J Clin Nutr. 2008 Sep;88(3):797-800.
6. Timpson NJ, et al. The fat mass- and obesity-associated locus and dietary intake in children. Am J Clin Nutr. 2008 Oct;88(4):971-8.
7. Grau K, et al. Macronutrient-specific effect of FTO rs9939609 in response to a 10-week randomized hypo-energetic diet among obese Europeans. Int J Obes (Lond). 2009 Nov;33(11):1227-34.
8. Reinehr T, Hinney A, Toschke AM, Hebebrand J. Aggravating effect of INSIG2 and FTO on overweight reduction in a one-year lifestyle intervention. Arch Dis Child 2009;94:965-7.
9. Martínez JA, et al. Obesity risk is associated with carbohydrate intake in women carrying the Gln27Glu beta2-adrenoceptor polymorphism. J Nutr. 2003 Aug;133(8):2549-54.
10. Sakane N, Yoshida T, Umekawa T, Kogure A, Kondo M. Beta2-adrenoceptor gene polymorphism and obesity. Lancet 1999;353:1976.



11. Corella D, Qi L, Sorli JV, Godoy D, Portoles O, Coltell O, et al. Obese subjects carrying the 11482G>A polymorphism at the perilipin locus are resistant to weight loss after dietary energy restriction. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:5121-6.
12. Deram S, Nicolau CY, Perez-Martinez P, Guazzelli I, Halpern A, Wajchenberg BL, et al. Effects of perilipin (PLIN) gene variation on metabolic syndrome risk and weight loss in obese children and adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:4933-40.
13. Soenen S, Mariman EC, Vogels N, Bouwman FG, den Hoed M, Brown L, et al. Relationship between perilipin gene polymorphisms and body weight and body composition during weight loss and weight maintenance. *Physiol Behav* 2009;96:723-8.
14. Corella D, Lai CQ, Demissie S, Cupples LA, Manning AK, Tucker KL, Ordovas JM. APOA5 gene variation modulates the effects of dietary fat intake on body mass index and obesity risk in the Framingham Heart Study. *J Mol Med*. 2007 Feb;85(2):119-28.
15. Aberle J, Evans D, Beil FU, Seedorf U. A polymorphism in the apolipoprotein A5 gene is associated with weight loss after short-term diet. *Clin Genet*. 2005 Aug;68(2):152-4.
16. Luan J, Browne PO, Harding AH, Halsall DJ, O'Rahilly S, Chatterjee VK, Wareham NJ. Evidence for gene-nutrient interaction at the PPARGgamma locus. *Diabetes*. 2001 Mar;50(3):686-9.
17. Memisoglu A, Hu FB, Hankinson SE, Manson JE, De Vivo I, Willett WC, Hunter DJ. Interaction between a peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene polymorphism and dietary fat intake in relation to body mass. *Hum Mol Genet*. 2003 Nov 15;12(22):2923-9.
18. Marti A, Corbalán MS, Martínez-González MA, Forga L, Martínez JA. CHO intake alters obesity risk associated with Pro12Ala polymorphism of PPARGgamma gene. *J Physiol Biochem*. 2002 Dec;58(4):219-20.
19. Adamo KB, Dent R, Langefeld CD, Cox M, Williams K, Carrick KM, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma 2 and acyl-CoA synthetase 5 polymorphisms influence diet response. *Obesity (Silver Spring)* 2007;15:1068-75.
20. Song Y, Miyaki K, Araki J, Zhang L, Omae K, Muramatsu M. The interaction between the interleukin 6 receptor gene genotype and dietary energy intake on abdominal obesity in Japanese men. *Metabolism*. 2007 Jul;56(7):925-30.



Κεντρικό Νευρικό Σύστημα

4.1

Συχνότητα Κατανομής των Πολυμορφισμών του Γονιδίου της COMT σε Έλληνες Ασθενείς με Σχιζοφρένεια και σε Μάρτυρες.

Κοτρώτσου Μαρία¹, Τουλούμης Χαράλαμπος², Βασιλακοπούλου Διδώ³, Καλαμπόκη Βίκυ¹ και Δρακούλης Νικόλαος¹

¹Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

²Τμήμα 10^ο Ψυχιατρικού Νοσοκομείου Αττικής «Δαφνί», Αθήνα

³ Τομέας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η σχιζοφρένεια είναι μία από τις σοβαρότερες ψυχικές διαταραχές. Αφορά το 1% του πληθυσμού παγκοσμίως. Πιστεύεται ότι η ασθένεια είναι το αποτέλεσμα μίας πληθώρας παραγόντων, οι οποίοι δρουν συνεργικά για τη εκδήλωση της. Ένας από αυτούς είναι η διαταραχή του νευροδιαβιβαστικού συστήματος της ντοπαμίνης. Πρόσφατες μελέτες, οι οποίες προσπαθούν να διευκρινίσουν τον ρόλο των πολυμορφισμών της κατεχολ-ο-μεθυλτραν-σφεράσης (COMT), ένζυμο που αποκοδομεί την ντοπαμίνη, έχουν δώσει αντικρουόμενα αποτελέσματα.

Στόχος της μελέτης μας είναι να εξετάσουμε την πιθανή συσχέτιση τριών πολυμορφισμών του γονιδίου της COMT (rs737865, rs4680 και rs165599) με τη σχιζοφρένεια.

Στη μελέτη συμμετείχαν 108 ασθενείς με σχιζοφρένεια, οι οποίοι προέρχονταν από το Ψυχιατρικό Νοσοκομείο «Δαφνί» και 97 δείγματα υγιών μαρτύρων. Εξετάστηκε ο γονότυπος των τριών μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών με την αναλυτική μέθοδο PCR-real time. Το κριτήριο χι-τετράγωνο και η λογαριθμική ανάλυση παλινδρόμησης χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση των διαφορών μεταξύ ασθενών και μαρτύρων.

Κανένας εκ των τριών πολυμορφισμών, rs737865, rs4680 και rs165599, δε βρέθηκε να σχετίζεται ανεξάρτητα με τη σχιζοφρένεια. Παρόλα αυτά, η απλοτυπική ανάλυση έδειξε ότι οι ασθενείς φέρουν συχνότερα τον απλότυπο T-A-A και οι συμμετέχοντες που φέρουν αυτό τον απλότυπο έχουν αυξημένο

κίνδυνο να αναπτύξουν την ασθένεια (ΣΚ=1.52; 95%ΟΑ:1.12-2.8; p=0.008). Επιπλέον, οι συμμετέχοντες με γονότυπο T/C-A/A-A/A έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου (ΣΚ=2,13; 95%ΟΑ:1.02-4.47; p=0.045) καθώς και οι συμμετέχοντες με έκφραση T/T-A/A-G/A (ΣΚ=3,20; 95%ΟΑ:1.02-10.05; p=0.046). Αναφορικά με τον απλότυπο T-G-G, που είναι ο προστατευτικός απλότυπος στη μελέτη μας βρέθηκε ένδειξη για προστατευτική δράση των εκφράσεων T/T-G/G-G/G (ΣΛ=0.22; 95% ΟΑ: 0.09-0.56; p=0.001) και T/T-G/A-G/G (ΣΛ=0.33; 95% ΟΑ: 0.12-0.87; p=0.025)

Στη μελέτη μας ο απλότυπος κινδύνου είναι ο T-A-A (A-A-A), ενώ ο T-G-G είναι ο προστατευτικός απλότυπος. Διαφορετικές μελέτες έχουν δείξει διαφορετικό απλότυπο κινδύνου. Αυτό εξηγείται από την διαφορετική εξελικτική πορεία του πληθυσμού που μελετάται και από τους περιορισμούς στο διαγνωστικό σύστημα. Η σχιζοφρένεια είναι μία πολυπαραγοντική νόσος και πολλά γονίδια σε συνδυασμό με περιβαλλοντικούς παράγοντες δρουν συνεργικά. Σύμφωνα με τη μελέτη των Bray et al.,¹ ο G-G-G απλότυπος παρουσιάζει μειωμένη έκφραση COMTmRNA στον φλοιό. Θα μπορούσαμε να υποθέσουμε ότι ο αντίστροφος απλότυπος A-A-A, που είναι και ο απλότυπος κινδύνου στη μελέτη μας, θα έχει αυξημένη έκφραση COMTmRNA στο φλοιό, συνεπώς χαμηλά επίπεδα ντοπαμίνης στον φλοιό και υψηλά επίπεδα ντοπαμίνης υποφλοιϊκά, γεγονός που είναι



συμβατό με τη νεώτερη θεωρία της ντοπαμίνης για τη σχιζοφρένεια.

Η μελέτη μας επιβεβαιώνει τη γενετική συμβολή της COMT στην σχιζοφρένεια στον Ελληνικό πληθυσμό.

Βιβλιογραφία

1. Bray N.J.; Owen M.J. Searching for schizophrenia genes. Trends in Molecular Medicine, 7, 4, 1 2001, pp. 169-174(6)
2. Michael C. O'Donovan, Nigel M. Williams and Michael J. Owen. Recent advances in the genetics of schizophrenia. Human Molecular Genetics, 2003, Vol. 12, Review Issue 2 R125-R133
3. Männistö PT, Kaakkola S. Catechol-O-methyltransferase (COMT): biochemistry, molecular biology, pharmacology, and clinical efficacy of the new selective COMT inhibitors. Pharmacol Rev. 1999;51(4):593-628. Review.
4. Owen MJ, O'Donovan MC, Gottesman II. Schizophrenia : a genetic disorder of the synapse ? BMJ 2005;330:158-159
5. Davis KL, Kahn RS, Ko G, Davidson M. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. Am J Psychiatry. 1991 Nov;148(11):1474-86. Review.
6. Meyer-Lindenberg A, Nicholas T, Callicott JH, Ding J, Kolachana B, et al. Impact of complex genetic variation in COMT on human brain function. Mol Psychiatry. 2006 11: 797: 867-877.
7. Maynard TM, Haskell GT, Lieberman JA, LaMantia AS. 22q11 DS: genomic mechanisms and gene function in DiGeorge/velocardiofacial syndrome. Int J Dev Neurosci. 2002 Jun-Aug;20(3-5):407-19.
8. Murphy KC. Schizophrenia and velo-cardiofacial syndrome. Lancet. 2002 Feb 2;359(9304):426-30. Review.
9. Lachman HM, Papolos DF, Saito T, Yu YM, Szumlanski CL, Weinshilboum RM. Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. Pharmacogenetics. 1996 Jun;6(3):243-50.
10. Lachman HM, Papolos DF, Saito T, Yu YM, Szumlanski CL, Weinshilboum RM. Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. Pharmacogenetics. 1996 Jun;6(3):243-50.
11. Egan MF, Goldberg TE, Kolachana BS, Callicott JH, Mazzanti CM, Straub RE, Goldman D, Weinberger DR. Effect of COMT Val108/158 Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001 Jun 5;98(12):6917-22.
12. Goldberg TE, Egan MF, Gscheidle T, Coppola R, Weickert T, Kolachana BS, Goldman D, Weinberger DR. Executive subprocesses in working memory: relationship to catechol-O-methyltransferase Val158Met genotype and schizophrenia. Arch Gen Psychiatry. 2003;60(9):889-96.
13. Li T, Sham PC, Vallada H, Xie T, Tang X, Murray RM, Liu X, Collier DA. Preferential transmission of the high activity allele of COMT in schizophrenia. Psychiatr Genet. 1996 Fall;6(3):131-3.
13. Glatt SJ, Faraone SV, Tsuang MT. Association between a functional catechol O-methyltransferase gene polymorphism and schizophrenia: meta-analysis of case-control and family-based studies. Am J Psychiatry. 2003 Mar;160(3):469-76.
15. Munafò MR, Bowes L, Clark TG, Flint J. Lack of association of the COMT (Val158/108 Met) gene and schizophrenia: a meta-analysis of case-control studies. Mol Psychiatry. 2005 Aug;10(8):765-70.
16. Egan MF, Goldberg TE, Kolachana BS, Callicott JH, Mazzanti CM, Straub RE, Goldman D, Weinberger DR. Effect of COMT Val108/158 Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001 Jun 5;98(12):6917-22.
17. Shifman S, Bronstein M, Sternfeld M, Pisanté-Shalom A, Lev-Lehman E, Weizman A, Reznik I, Spivak B, Grisaru N, Karp L, Schiffer R, Kotler M, Strous RD, Swartz-Vanetik M, Knobler HY, Shinar E, Beckmann JS, Yakir B, Risch N, Zak NB, Darvasi A. A highly significant association between a COMT haplotype and schizophrenia. Am J Hum Genet. 2002 Dec;71(6):1296-302.
18. Chen X, Wang X, O'Neill AF, Walsh D, Kendler KS. Variants in the catechol-o-methyltransferase (COMT) gene are associated with schizophrenia in Irish high-density families. Mol Psychiatry. 2004
19. Handoko HY, Nyholt DR, Hayward NK, Nertney DA, Hannah DE, Windus LC, McCormack CM, Smith HJ, Filippich C, James MR, Mowry BJ. Separate and interacting effects within the catechol-O-methyltransferase (COMT) are associated with schizophrenia. Mol Psychiatry. 2005 Jun;10(6):589-97.
20. Salisbury BA, Pungliya M, Choi JY, Jiang R, Sun XJ, Stephens JC. SNP and haplotype variation in the human genome. Mutat Res. 2003 May 15; 526(1-2):53-61. Review.



4.2

Συσχέτιση πολυμορφισμών των γονιδίων *MAPT* και *SNCA* με τη νόσο του Πάρκινσον

Νικόλαος Ρεφενές^{1,2}, Reinhold Kreutz², Juliane Bolbrinker², Γεώργιος Τάγαρης³, Antonio Orlacchio⁴, Νικόλαος Δρακούλης¹

¹Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

²Institute of Clinical Pharmacology and Toxicology, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Germany

³Νευρολογική Κλινική, "Γ. Γεννηματάς" Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών.

⁴Department of Neuroscience, University of Rome "Tor Vergata", Rome, Italy

Οι πρωτεΐνες tau είναι μια ομάδα φωσφορυλιωμένων νευρωνικών πρωτεϊνών που προσδένονται στους μικροσωληνίσκους παρέχοντάς τους σταθερότητα και κωδικοποιούνται από το γονίδιο *MAPT*. Ο απλότυπος H1 που καλύπτει ολόκληρο το γονίδιο *MAPT* έχει ήδη συσχετισθεί με τη νόσο Πάρκινσον. Ωστόσο, έχουν αναφερθεί αμφιλεγόμενα αποτελέσματα, όπως δύο μελέτες σε ελληνικούς πληθυσμούς με αντίθετες επιδράσεις του H1 στη νόσο. Συνεπώς, επιδιώξαμε να αξιολογήσουμε αν ο απλότυπος H1 και πρόσθετοι Σημειακοί Νουκλεοτιδικοί Πολυμορφισμοί (ΣΝΠ) που περιλαμβάνονται στον H1 σχετίζονται με τη νόσο Πάρκινσον σε ένα δείγμα Ελλήνων ασθενών. Αναλύσαμε τους απλότυπους *MAPT* H1 και H2 σε ομάδες 122 ασθενών και 123 μαρτύρων Ελληνικής καταγωγής, αντιστοίχως. Ο γενετικός καθορισμός των ΣΝΠ διεξήχθη με τον αναλυτή ABI Prism[®] 7000 SDS σε συνδυασμό με το ABI TaqMan Universal Master Mix. Η ορθότητα των αποτελεσμάτων επιβεβαιώθηκε με την εξακρίβωση της αλληλουχίας των βάσεων σε τμήματα που περιείχαν τους ΣΝΠ. Η παρουσία του απλότυπου H1 συσχετίστηκε με τη νόσο Πάρκινσον σε ποσοστό στατιστικά σημαντικό (OR για H1H1 vs. H1H2 και H2H2: 1.566; 95% CI: 1.137-2.157; P = 0.006) και η συσχέτιση παρέμεινε σημαντική μετά από διαχωρισμό ανά φύλο. Περαιτέρω ανάλυση των H1 υπο-απλοτύπων με τρεις σημειακούς νουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς (rs242562, rs2435207 και rs3785883) δεν έδειξε καμία σημαντική συσχέτιση με τη νόσο Πάρκινσον. Τα δεδομένα μας υποστηρίζουν το συνολικό γενετικό ρόλο του γονιδίου *MAPT* και του απλότυπου H1 στην παθογένεια του Πάρκινσον στους Έλληνες ασθενείς. Εντούτοις, η συσχέτιση των H1 υπο-

απλοτύπων με τη νόσο που είχαν υποστηρίξει στο παρελθόν μελέτες, δεν επιβεβαιώθηκε στην παρούσα μελέτη.

Επιπροσθέτως, ελέγχθηκε η υπόθεση της συνεργιστικής αλληλεπίδρασης μεταξύ του H1 απλότυπου του γονιδίου *MAPT* και του Σημειακού Νουκλεοτιδικού Πολυμορφισμού (ΣΝΠ) rs356219 στην 3' περιοχή του γονιδίου *SNCA*. Η συνεργιστική αλληλεπίδραση των γονοτύπων *MAPT* H1H1 και *SNCA* (rs356219) GG εντοπίστηκε πρόσφατα ως πιθανός παράγοντας διπλασιασμού του κινδύνου ανάπτυξης του Parkinson. Ο στόχος της δεύτερης μελέτης μας ήταν η εξέταση της σύνδεσης της αλληλεπίδρασης των δύο μεταλλάξεων με τη νόσο Parkinson σε μια μελέτη ασθενών-μαρτύρων σε πληθυσμό της Νοτίου Ευρώπης. Αναλύσαμε τους απλότυπους του γονιδίου *MAPT* και διεξάγαμε γενετικό καθορισμό (Taqman assays) για τον δείκτη *SNCA* rs356219 σε ομάδες των 352 ασθενών και 417 μαρτύρων Ελληνικής και Ιταλικής καταγωγής, αντιστοίχως.

Οι ασθενείς (n=352) ήταν πιο συχνά ομοζυγώτες για τον *MAPT* H1 απλότυπο από τους μάρτυρες (n=417). Εντούτοις, η σχέση του *SNCA* rs356219 G αλληλίου ή των GG ομοζυγωτών με τη νόσο του Parkinson δεν επιβεβαιώθηκε. Ακόμη, η αλληλεπίδραση του *SNCA* GG γονοτύπου με τον *MAPT* H1H1 γονότυπο δεν αποδείχθηκε ότι αυξάνεται στους ασθενείς στη σύγκριση με τους μάρτυρες.

Τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι η αύξηση του κινδύνου ανάπτυξης της νόσου λόγω του συγκεκριμένου συνδυασμού γονοτύπων δεν είναι δυνατό να αναπαράχθει σε όλους τους πληθυσμούς ασθενών με Parkinson.



Βιβλιογραφία

1. Forno LS: Neuropathology of Parkinson's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1996, 55:259-272.
2. Volles MJ, Lansbury PT Jr.: Zeroing in on the pathogenic form of alpha-synuclein and its mechanism of neurotoxicity in Parkinson's disease. *Biochemistry* 2003, 42:7871-7878.
3. Goris A, Williams-Gray CH, Clark GR, et al: Tau and alpha-synuclein in susceptibility to, and dementia in, Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2007, 62:145-153.
4. Jensen PH, Hager H, Nielsen MS, et al.: alpha-synuclein binds to Tau and stimulates the protein kinase A-catalyzed tau phosphorylation of serine residues 262 and 356. *J Biol Chem* 1999, 274:25481-25489.
5. Giasson BI, Forman MS, Higuchi M, et al: Initiation and synergistic fibrillization of tau and alpha-synuclein. *Science* 2003, 300:636-640.
6. Higuchi M, Lee VM, Trojanowski JQ: Tau and axonopathy in neurodegenerative disorders. *Neuromolecular Med* 2002, 2:131-150.
7. Baker M, Litvan I, Houlden H, et al: Association of an extended haplotype in the tau gene with progressive supranuclear palsy. *Hum Mol Genet* 1999, 8:711-715.
8. Evans W, Fung HC, Steele J, et al: The tau H2 haplotype is almost exclusively Caucasian in origin. *Neurosci Lett* 2004, 369:183-185.
9. Fidani L, Kalinderi K, Bostantjopoulou S, et al: Association of the Tau haplotype with Parkinson's disease in the Greek population. *Mov Disord* 2006, 21:1036-1039.
10. Fung HC, Xiromerisiou G, Gibbs JR, et al: Association of tau haplotype-tagging polymorphisms with Parkinson's disease in diverse ethnic Parkinson's disease cohorts. *Neurodegener Dis* 2006, 3:327-333.
11. Winkler S, Konig IR, Lohmann-Hedrich K, et al: Role of ethnicity on the association of MAPT H1 haplotypes and subhaplotypes in Parkinson's disease. *Eur J Hum Genet* 2007, 15:1163-1168.
12. Zabetian CP, Hutter CM, Factor SA, et al: Association analysis of MAPT H1 haplotype and subhaplotypes in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2007, 62:137-144.
13. Skipper L, Wilkes K, Toft M, et al: Linkage disequilibrium and association of MAPT H1 in Parkinson disease. *Am J Hum Genet* 2004, 75:669-677.
14. Tobin JE, Latourelle JC, Lew MF, et al: Haplotypes and gene expression implicate the MAPT region for Parkinson disease. The GenePD Study. *Neurology* 2008, 71:28-34.
15. Hughes AJ, Daniel SE, Lees AJ: Improved accuracy of clinical diagnosis of Lewy body Parkinson's disease. *Neurology* 2001, 57:1497-9.
16. Kwok JB, Teber ET, Loy C, et al: Tau haplotypes regulate transcription and are associated with Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2004, 55:329-334.
17. Laws SM, Friedrich P, Diehl-Schmid J, et al: Fine mapping of the MAPT locus using quantitative trait analysis identifies possible causal variants in Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry* 2007, 12:510-517.
18. Healy DG, Abou-Sleiman PM, Lees AJ, et al: Tau gene and Parkinson's disease: a case-control study and meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004, 75:962-965.
19. Zhang J, Song Y, Chen H, Fan D: The tau gene haplotype h1 confers a susceptibility to Parkinson's disease. *Eur Neurol* 2005, 53:15-21.
20. McCulloch CC, Kay DM, Factor SA, et al: Exploring gene-environment interactions in Parkinson's disease. *Hum Genet* 2008, 123:257-265.

4.3

Επιπολασμός των πολυμορφισμών: A→G (RS 4420638), C→T (RS 7412) και T→C (RS 429358), G→C (RS 3745833), A→G (RS 157581) των γονιδίων APOC1, APOE, GALP και TOMM40, αντίστοιχα, που σχετίζονται με τη Νόσο Alzheimer, σε 296 άτομα ελληνικής καταγωγής.

Ροδανάκη Μαρία-Ευαγγελία, Γασπαράτου Ελένη, Δρακούλης Νικόλαος

Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η νόσος Αλτσχάιμερ (NA) είναι το συνηθέστερο αίτιο της γεροντικής άνοιας. Ευνοείται από γενετική προδιάθεση, αλλά δεν

παύει να είναι μια πολυπαραγοντική νόσος, που επηρεάζεται και από διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες. Πολυάριθμα



γονίδια που σχετίζονται με τη νόσο έχουν ανακαλυφθεί και μελετηθεί, με περισσότερο ή λιγότερο ισχυρή συμμετοχή. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η περιγραφή τεσσάρων γονιδίων που έχουν συνδεθεί με τη NA, APOE, APOC1, TOMM40 και GALP, ως προς τους μηχανισμούς εμπλοκής τους καθώς και ο υπολογισμός της συχνότητας κατανομής τους σε δείγμα ελληνικού πληθυσμού. Ο υπό μελέτη πληθυσμός ανέρχεται στα 296 άτομα, ελληνικής καταγωγής. Τα 163 εξ αυτών ήταν θηλυκού γένους, και τα υπόλοιπα 133 αρσενικού. Απομονώθηκε το DNA από επιθηλιακά κύτταρα των εθελοντών και αναλύθηκε με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (real time PCR). Στο σύνολο του δείγματος, οι φυσιολογικές, «αρχέγονες» μορφές των γονιδίων απαντούν σε μεγαλύτερο ποσοστό σε σχέση με τις μεταλλαγμένες. Μάλιστα, ο μεταλλαγμένος γονότυπος C:C του APOE (rs:429358) δεν εντοπίστηκε καθόλου, ενώ τον μεταλλαγμένο γονότυπο T:T (rs:7412) του ίδιου γονιδίου έφεραν μόλις 2 άτομα, ή 1% στο σύνολο του δείγματος. Στο ίδιο ποσοστό εμφανίστηκε και ο G:G του γονιδίου APOC1 ενώ 2% των ατόμων έφεραν τον G:G του TOMM40. Τέλος, τα μεταλλαγμένα αλληλόμορφα του GALP C:C εντοπίστηκαν σε μεγαλύτερο ποσοστό, 14%. Μεταξύ ανδρών και γυναικών η κατανομή των γονιδίων δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές. Η γνώση των γονιδίων και των μηχανισμών μέσω των οποίων αυτά σχετίζονται με τη NA, παίζει σημαντικό ρόλο στην προσπάθεια ανάπτυξης νέων αποτελεσματικών τρόπων θεραπείας και αποτελεί έναν πολλά υποσχόμενο τομέα στα πλαίσια της σύγχρονης προληπτικής ιατρικής.

Βιβλιογραφία

1. Bekris Lynn M. et al., 2010. Genetics of Alzheimer Disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol*. 2010;23(4): 213-227.
2. Bird T.D., 2008. Genetic Aspects of Alzheimer Disease. *Genet Med*. 2008 Apr;10(4):231-9
3. Dickstein Dara L. et al., 2010. Role of Vascular Risk Factors and Vascular Dysfunction in Alzheimer's Disease. *Mt Sinai J Med*. 2010 Jan-Feb;77(1):82-102.
4. Mendez MF et al., 1992. Risk factors in Alzheimer's disease: a clinicopathologic study. *Neurology*. 1992 Apr;42(4):770-5.
5. Gatz Margaret et al., 2006. Role of Genes and Environment for Explaining Alzheimer Disease. *Arch Gen Psychiatry*. 2006;63:168-174.
6. Barranco-Quintana JL et al., 2005. Risk factors for Alzheimer's disease. *Rev Neurol*. 2005 May 16-31;40(10):613-8.
7. Fleminger S. et al., 2003. Head injury as a risk factor for Alzheimer's disease: the evidence 10 years on; a partial replication. *J neurol Neurosurg Psychiatry* 2003;74:857-862.
8. Launer L. J. et al., 1999. Rates and risk factors for dementia and Alzheimer's disease: Results from EURODEM pooled analyses. *Neurology* 1999;52;78.
9. Green Robert C. et al., 2003. Depression as a Risk Factor for Alzheimer Disease. *Arch Neurol*. 2003;60:753-759.
10. Moore D' Vesharronne et al., 2011. Isoforms of apolipoprotein C-I associated with individuals with coronary artery disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 404 (2011) 1034-1038.
11. de Haan Willeke et al., 2008. Apolipoprotein CI inhibits scavenger receptor BI and increases plasma HDL levels in vivo *Biochemical and Biophysical Research Communications* 377 (2008) 1294-1298.
12. Westerterp Marit et al., 2007. Apolipoprotein C-I binds free fatty acids and reduces their intracellular esterification. *The Journal of Lipid Research*, 48, 1353-1361.
13. Jong Miek C. et al., 1999. Role of ApoCs in Lipoprotein Metabolism – Functional Differences Between ApoC1, ApoC2 and ApoC3. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 1999; 19: 472-484.
14. Kim Jungsu et al., 2009. The Role of Apolipoprotein E in Alzheimer's Disease. *Neuron*. 2009 August 13; 63(3): 287-303.
15. Leduc Valerie et al., 2010. APOE and cholesterol homeostasis in Alzheimer's disease. *Trends in Molecular Medicine* Vol.16 No.10.
16. Μποσαντζοπούλου Σεβαστή, Κατσαρού, Ζωή, Γκίτσα Ευαγγελία. Η απολιποπρωτεΐνη E σε εκφυλιστικές νόσους του ΚΝΣ. *Εγκέφαλος Αρχεία Νευρολογίας και Ψυχιατρικής*.
17. Man Pui-Sin et al., 2008. Galanin-like peptide: A role in the homeostatic regulation of energy balance? *Neuropharmacology* 55 (2008) 1-7.
18. Krasnow et al., 2003. A role for galanin-like peptide in the integration of feeding, body weight, regulation, and reproduction in the mouse. *Endocrinology* 144, 813-822.
19. Lang Roland et al., 2007. The galanin peptide family: Receptor pharmacology, pleiotropic biological actions, and implications in health and disease. *Pharmacology & Therapeutics* 115 (2007) 177-207.



20. Roses A.D. et al., 2009. A TOMM40 variable-length polymorphism predicts the age of late-onset Alzheimer's disease. The

Pharmacogenomics Journal (2010) 10, 375–384.

4.4

Συχνότητα Κατανομής και Σχέση των Πολυμορφισμών RS7412 και RS429358 του Γονιδίου της Απολιποπρωτεΐνης E, με τη Νόσο Alzheimer, σε Δείγμα Ασθενών Με Alzheimer και σε Ομάδα Ελέγχου.

Μάλλιου Μάρα^{1,2}, Δρακούλης Νικόλαος²

¹Facoltà di Farmacia, Università degli Studi di Perugia

²Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η νόσος Alzheimer είναι μία εκφυλιστική νόσος του κεντρικού νευρικού συστήματος που οδηγεί στην απώλεια μνήμης, δυσκολία εκπόνησης καθημερινών λειτουργιών, ανησυχία, επιθετικότητα, ενώ στα τελευταία στάδια ο ασθενής οδηγείται σε κόμα και επέρχεται ο θάνατος (1). Στην παρούσα μελέτη αναλύθηκαν οι πολυμορφισμοί της απολιποπρωτεΐνης E, rs7412 και rs429358 και η σχέση αυτών με τη νόσο Alzheimer, τόσο μεμονωμένα όσο και συνδυαστικά στο ίδιο γονίδιο. Πραγματοποιήθηκε δειγματοληψία γενετικού υλικού με βαμβακοφόρους στυλεούς σε δείγμα 95 Ελλήνων ασθενών με κλινικά πιστοποιημένη νόσο Alzheimer και σε 100 υγιείς μάρτυρες, στη συνέχεια ακολούθησε η απομόνωση του γενετικού υλικού (DNA Extraction), και η ανάλυση μέσω της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (rtPCR). Τέλος, έγινε στατιστική ανάλυση της κατανομής των γονοτύπων των πολυμορφισμών rs7412 και rs429358 στην ομάδα των ασθενών και μαρτύρων και υπολογίστηκε ο σχετικός λόγος (odds ratio, OR) του κάθε πολυμορφισμού μεμονωμένα και συνδυαστικά τόσο στο γενικό σύνολο, όσο και μετά από κατηγοριοποίηση σε άρρενα και θήλεα άτομα. Κατόπιν, με γνώμονα το εύρος του διαστήματος εμπιστοσύνης (95% ΔΕ) του σχετικού λόγου, αναζητήθηκε η στατιστική σημαντικότητα των αποτελεσμάτων σε σχέση με την προδιάθεση ανάπτυξης της νόσου Alzheimer σε ασυμπτωματικά άτομα. Στην παρούσα μελέτη επιβεβαιώνεται η γενετική συμβολή της απολιποπρωτεΐνης E, ως προς την εκδήλωση της νόσου Alzheimer με εξαίρεση τον πολυμορφισμό rs7412, όταν

αυτός παρουσιάζεται μεμονωμένα. Οι άνδρες που στο γονιδίωμα τους φέρουν τον πολυμορφισμό rs429358 μεμονωμένα ή συνδυαστικά με τον rs7412, χαρακτηρίζονται από διπλάσια προδιάθεση προς τη νόσο σε σύγκριση με τις γυναίκες.

Βιβλιογραφία

- (1a) Κόκκας Β, Κίτσιος Γ, Τσολάκη Μ, Δομικές και Μοριακές Μεταβολές στη Νόσο Alzheimer: Στόχοι Φαρμακολογικών παρεμβάσεων σε μοριακό επίπεδο. Ψυχιατρική 2003, 14:28-45
(1b) Moller HJ, Graeber MB, The case described by Alois Alzheimer in 1911. Historical and conceptual perspectives based on the clinical record and neurohistological sections. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci, 1998, 248 (3):111-22
(1c) Ball MJ, Murdoch GH. Neuropathological criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: Are we really ready yet? Neurobiol Aging, 1997, 18 (4Suppl):S3-12
- (2a) Τσολάκη Μ, Άνοια τύπου Alzheimer: η πρόκληση του 21^{ου} αιώνα, στο Υγεία και Κοινωνία, Ειδικές Μορφωτικές Εκδόσεις ΕΙΕ, Αθήνα 2002, σελ. 105-137
(2b) Formos J, Dementia and Risk factors Med Assoc 2009, 108, 10
(2c) Selkoe DJ Molecular pathology of Alzheimer's Disease. Neuron 1991;6(4):487-98
- (3a) Γασπαράτου Ε., Ροδανάκη Μ., Επιτολασμός των πολυμορφισμών : A-> G (RS4420638), C->T (RS 7412) και T-> C (RS429358), A-> G (RS 157581), G-> C (RS 3745833) των γονιδίων APOC1, APOE, TOMM40 και GALP, αντίστοιχα που σχετίζονται με τη νόσο Alzheimer, σε δείγμα



- ελληνικού πληθυσμού. Πτυχιακή Εργασία. Αθήνα, 2011
- (3b) Cuojun BU, Apolipoprotein E and its receptors in Alzheimer's Disease; pathways, pathogenesis and therapy. *Nat Rev Neurosci*, 2009; 10(5):333-344
- (3c) Sklavounou E, Economou-Petersen E, Karadima G, Panas M, Avramopoulos D, Varsou A, Vassilopoulos D, Petersen M. Apolipoprotein E polymorphism in the Greek population, *Clin Genet* 1997; 52:216-218.
- (3d) Jungu K, Basak JM, and Holtzman DM, The Role of apolipoprotein E in Alzheimer's disease. *Neuron* 2009 August 13;63(30):287-303
- (3e) Καζάνης Μ, Βαβαγιάννης Α, Φαρμακευτική Χημεία 2, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 2011
4. (4a) Alzheimer's Disease Genetics Fact Sheet Alzheimer's Disease Education & Referral (ADEAR) Center, A Service of the National Institute on Aging, National Institutes of Health, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 11-6424, June 2011
- (4b) Agosta F, Vessel KA, Miller BL, Migliaccio R, Bonasera SJ, Filippi M, Boxer AL, Karydas A, Possin KL, Gorno-Tempini ML, Apolipoprotein E epsilon4 is associated with disease-specific effects on brain atrophy in Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(6):2018-22
5. Light Cyclor 480-Manual: www.roche-applied-science.com, Roche Diagnostics
6. Jungu K, Basak JM, and Holtzman DM, The Role of apolipoprotein E in Alzheimer's disease. *Neuron* 2009 August 13;63(30):287-303

4.5

Επίδραση των Πολυμορφισμών RS2653349 του Γονιδίου HCRTR2 και RS5443 του Γονιδίου GNB3 στην Εκδήλωση Αθροιστικής Κεφαλαλγίας και στην Ανταπόκριση των Ασθενών σε Θεραπευτικό Σχήμα με Τριπτάνες

Τόλιζα Ιωάννα, Δρακούλης Νικόλαος

Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Οι αθροιστικές κεφαλαλγίες ανήκουν στην ευρύτερη κατηγορία των νευραλγιών του τριδύμου νεύρου (TACs). Η συμπτωματολογία τους χαρακτηρίζεται από πολύ έντονο πόνο στην μία πλευρά του κεφαλιού με συνοδά συμπτώματα από το συμπαθητικό και παρασυμπαθητικό σύστημα. Κατατάσσονται σε οξείες, χρόνιες, πρωτογενείς και δευτερογενείς αθροιστικές κεφαλαλγίες. Πολλοί είναι οι πιθανοί παράγοντες πυροδότησης σε μια ενεργή περίοδο κεφαλαλγίας, ωστόσο, διαφαίνεται πως η υπάρχει γενετική προδιάθεση για την εμφάνισή της, η οποία συνδέεται με τον πολυμορφισμό rs2653349 στο γονίδιο HCRTR2 που κωδικοποιεί τον υποδοχέα του πεπτιδίου της υποκρετίνης. Φάρμακα εκλογής για την θεραπεία των αθροιστικών κεφαλαλγιών αποτελούν οι τριπτάνες που χρησιμοποιούνται σε διάφορα θεραπευτικά σχήματα. Φαίνεται, ωστόσο, πως πολυμορφισμοί όπως ο rs5443 στο γονίδιο

GNB3 συνδέονται με την διαφορετική απόκριση των ασθενών σε ανάλογο θεραπευτικό σχήμα. Στην παρούσα εργασία συγκεντρώθηκαν τα δεδομένα από την ανάλυση του γονιδιώματος 501 υγιών εθελοντών που απομονώθηκε από επιθηλιακά κύτταρα με την χρήση της PCR και ελέγχθηκε για τους ανωτέρω πολυμορφισμούς.

Υπολογίστηκαν οι συχνότητες εμφάνισης των GG, AG και AA (rs2653349) αλληλόμορφων καθώς και των CC, CT και TT (rs5443) γονοτύπων, ξεχωριστά για κάθε γονίδιο και έπειτα, υπολογίστηκαν οι λόγοι των σχετικών πιθανοτήτων. Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων προέκυψε ότι, μια γυναίκα με γονότυπο GG ή AG διατρέχει 1,22 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να εκδηλώσει ΑΚ από την πιθανότητα ένας άνδρας με τον ίδιο γονότυπο. Οι γονότυποι GG ή AG μπορούν να χαρακτηριστούν «προστατευτικοί» για τους άνδρες. Για τον πολυμορφισμό rs5443 προέκυψε πως η πιθανότητα ένας άντρας



ομόζυγος για το αλληλομορφο CC, να έχει καλύτερη ανταπόκριση στη θεραπεία με τριπτάνες είναι 1,23 φορές μεγαλύτερη από μια γυναίκα. Τέλος, ο συνδυασμός των δύο αυτών χαρακτηριστικών μειώνει την πιθανότητα ένας άντρας να εκδηλώσει ΑΚ κατά 6,6 φορές έναντι μιας γυναίκας. Ο αντρικός πληθυσμός φαίνεται να είναι λιγότερο ευαίσθητος απέναντι σ' αυτή την νευραλγία με ταυτόχρονα καλύτερη ανταπόκριση σε θεραπεία με τριπτάνη.

Βιβλιογραφία

1. Campbell J. Keith: Diagnosis and treatment of cluster headache. *Journal of Pain and Symptom Management*, 8, 3, 155-164, 1993
2. Torelli P, Manzoni GC: Pain and behaviour in cluster headache. A prospective study and review of the literature. *Funct Neurol* 2003, 18:205-210.
3. Τριανταφυλλίδου-Μπίκα Α: Αθροιστική Κεφαλαλγία. *Στοματολογία* 2004, 61(1):23-37
4. Pinessi Lorenzo, Rainero Innocenzo, Rivoiro Chiara, Rubino Elisa, Gallone Salvatore: Genetics of cluster headache: an update *J Headache Pain* (2005) 6:234-236
5. Pinessi L. Rainero I, Rivoiro C, Rubino E, Gallone S. Genetics of cluster headache : An update. *J .Headache Pain*, 2005;6:234-236
6. Russel MB. Epidemiology and genetics of cluster headache, *Lancet Neurol*. 2004;3:279-283
7. May A, Bahra A, Buchel C, Frackowiak RS, Goasby PJ. Hypothalamic activation in cluster headache attacks, *Lancet*. 1998;352:275-278
8. Ebrahim IO, Howard RS, Kopelman MD, Sharief MK, Williams AJ: The Hypocretin/orexin system. *J R Soc Med*. 2002; 95(5): 227-230.
9. Lin Ling, Faraco Juliette, Li Robin, Kadotani Hiroshi, Rogers William, Lin Xiaoyan, Qiu Xiaohong, Jong Pieter J. de,† Nishino Seiji, Mignot Emmanuel, The Sleep Disorder Canine Narcolepsy Is Caused by a Mutation in the Hypocretin (Orexin) Receptor 2 Gene. *Cell*, 98, 365-376, 1999.
10. Pascual J, Lainez MJ, Dodick D, Hering-Hanit R: Antiepileptic drugs for the treatment of chronic and episodic cluster headache: a review. *Headache* 2007, 47:81-89
11. Pringsheim T, Magnoux E, Dobson CF, Hamel E, Aube M: Melatonin as adjunctive therapy in the prophylaxis of cluster headache: a pilot study. *Headache* 2002, 42:787-792.
12. Beck E, Sieber WJ, Trejo R,: Management of Cluster Headache. *Am Fam Physician*. 2005;71(4):717-724.
13. Leone Massimo, Bussone Gennaro: Pathophysiology of trigeminal autonomic cephalalgias, *The Lancet Neurology*, Volume 8, Issue 8, 755 - 764, 2009
14. Sarchielli P, Granella F, Prudenzano MP, Pini LA, Guidetti V, Bono G, Pinessi L, Alessandri M, Antonaci F, Fanciullacci M, Ferrari A, Guazzelli M, Nappi G, Sances G, Sandrini G, Savi L, Tassorelli C, Zanchin G: Italian guidelines for primary headaches: 2012 revised version, *J Headache Pain* (2012) 13 (Suppl 2):S31-S70
15. Pini L A, Morelli G: Triptans turning treatment in cluster headache attack. *Ital G Neurol Sci* (1999) 20:S66-S68

4.6

Μελέτη της επίδρασης των σημειακών νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών στα γονίδια *ADH1B*, *ADH4*, *ADH1C*, *OPRM1*, *DRD2*, *BDNF* και *ALDH2* στην εξάρτηση από αλκοόλ και νικοτίνη και της συχνότητας εμφάνισης αυτών σε γενικό πληθυσμό.

Σκαρπαθιώτη Ασπασία, Δρακούλης Νικόλαος

Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Στην εργασία αυτή έγινε προσπάθεια εύρεσης των σημειακών νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών ορισμένων γονιδίων που μπορεί να διαφοροποιούν την επίδραση της αιθανόλης και της νικοτίνης από άτομο σε άτομο, της συχνότητας εμφάνισής τους στο γενικό πληθυσμό και του συνολικού κινδύνου ανάπτυξης εξάρτησης στις ουσίες αυτές.

Υλικά-Μέθοδος: Πραγματοποιήθηκε ανάλυση του γονιδιώματος 308 ατόμων ελληνικής καταγωγής για τον εντοπισμό συνολικά 171 SNPs, συλλογή στοιχείων για τους γονότυπους των γονιδίων με τους πολυμορφισμούς που σχετίζονται με την εξάρτηση στη νικοτίνη και την αιθανόλη και, στη συνέχεια, στατιστική επεξεργασία αυτών



για να βρεθεί η συχνότητά τους στο δείγμα. **Αποτελέσματα:** Από τους πολυμορφισμούς που εξετάστηκαν, έχουν απομονωθεί και μελετηθούν 7 SNPs που σχετίζονται με την εξάρτηση στη νικοτίνη και την αιθανόλη. Πρόκειται για πολυμορφισμούς στα γονίδια *ADH1B*, *ADH4*, *ADH1C* και *ALDH2*, τα οποία κωδικοποιούν μεταβολικά ένζυμα της αιθανόλης, και στα γονίδια *BDNF*, *OPRM1* και *DRD2*, που σχετίζονται με την οδό ανταμοιβής στο Κ.Ν.Σ.. Βρέθηκε ότι τα άτομα που εξετάστηκαν σε ποσοστό που κυμαίνεται από 0% έως 17% είναι ομόζυγα για τα αλληλόμορφα με τα SNPs, ενώ σε ποσοστό που φτάνει μέχρι και 51% διαθέτουν ένα μεταλλαγμένο και ένα αρχέγονο αλληλόμορφο. Ο υπολογισμός του συνολικού κινδύνου (TGS) πραγματοποιήθηκε με τη χρησιμοποίηση ενός ειδικού αλγορίθμου για την κάθε ουσία και υπολογίστηκε ένας αριθμός μεταξύ 0 - 100 για κάθε άτομο. **Συζήτηση - Συμπεράσματα:** Στην παρούσα εργασία βρέθηκε πως η εξάρτηση στην αιθανόλη και τη νικοτίνη σχετίζεται με ορισμένους σημειακούς νουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς σε γονίδια σημαντικά για το μεταβολισμό και τη δράση των ουσιών αυτών. Επίσης, βρέθηκε πως οι πολυμορφισμοί αυτοί εντοπίζονται, σε διάφορα ποσοστά, σε έναν ελληνικό πληθυσμό, με εξαίρεση αυτόν του γονιδίου *ALDH2*. Τέλος, τα άτομα που εξετάστηκαν έχουν χαμηλό κίνδυνο ανάπτυξης εξάρτησης στις δύο ουσίες.

Βιβλιογραφία

1. http://www.euphix.org/object_class/euph_health_behaviours_smoking.html (30/10/2011)
2. Nashmi R., Dickinson M.E., McKinney S., Jareb M., Labarca C., Fraser S.E., Lester H.A.: Assembly of $\alpha_4\beta_2$ Nicotinic Acetylcholine Receptors Assessed with Functional Fluorescently Labeled Subunits: Effects of Localization, Trafficking, and Nicotine-Induced Upregulation in Clonal Mammalian Cells and in Cultured Midbrain Neurons. *J. Neurosci.*, 2003; 23(37):11554–11567
3. Douglas W.W., Rubin R.P.: Mechanism of Nicotinic Action at the Adrenal Medulla: Calcium as a Link in Stimulus-secretion Coupling. *Nature*, 1961, 192:1087-1089
4. Klein T.E., Chang J.T., Cho M.K., Easton K.L., Fergerson R., Hewett M., Lin Z., Liu Y., Liu S., Oliver D.E., Rubin D.L., Shafa F., Stuart J.M., Altman R.B., "Integrating Genotype and Phenotype Information: An Overview of the PharmGKB Project" (220k PDF), *The Pharmacogenomics Journal* (2001) 1, 167-170
5. Howland R.D., Mycek M.J.: Φαρμακολογία, 3^η Έκδοση, Εκδόσεις Παρισιάνου 2007, σ. 125
6. Rang H.P., Dale M.M., Ritter J.M., Moore P.K.: Φαρμακολογία, 5^η Έκδοση, Εκδόσεις Παρισιάνου 2007, σ. 649-656
7. http://ec.europa.eu/health-eu/my_lifestyle/alcohol/index_el.htm (30/10/2011)
8. Zaleski M., Struffaldi Morato G., Aparecida da Silva V., Lemos T.: Neuropharmacological aspects of chronic alcohol use and withdrawal syndrome. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 26(1); 40-42
9. Stephens D.N., Duka T.: Cognitive and emotional consequences of binge drinking: role of amygdala and prefrontal cortex. *Phil. Trans. R. Soc. B* (2008) 363, 3169–3179
10. Harris R.A., Allan A.M.: Alcohol intoxication: ion channels and genetics. *FASEB J.* 1989, 3: 1689-1695
11. Peoples R.W., Weight F.F.: Cutoff in potency implicates alcohol inhibition of N-methyl-D-aspartate receptors in alcohol intoxication. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995, 92, 2825-2829
12. Herz A.: Endogenous opioid systems and alcohol addiction. *Psychopharmacology* (1997) 129: 99-111
13. Macgregor S., Lind P.A., Bucholz K.K., Hansell N.K., Madden P.A.F., Richter M.M., Montgomery G.W., Martin N.G., Heath A.C., Whitfield J.B.: Associations of ADH and ALDH2 gene variation with self report alcohol reactions, consumption and dependence: an integrated analysis. *Human Molecular Genetics*, 2009, Vol. 18, No. 3 580–593
14. Lee S.L., Höög J.O., Yin S.J.: Functionality of allelic variations in human alcohol dehydrogenase gene family: assessment of a functional window for protection against alcoholism. *Pharmacogenetics* 2004, 14:725–732
15. Luo X., Kranzler H.R., Zuo L., Wang S., Gelernter J.: Personality Traits of Agreeableness and Extraversion are Associated with ADH4 Variation. *Biol Psychiatry*. 2007; 61(5): 599–608
16. Luo X., Kranzler H.R., Zuo L., Lappalainen J., Yang B., Gelernter J.: ADH4 Gene Variation is Associated with Alcohol Dependence and Drug Dependence in European Americans: Results from HWD Tests and Case-Control Association Studies. *Neuropsychopharmacology* (2006) 31, 1085–1095
17. Kimura Y., Nishimura F.T., Abe S., Fukunaga T., Tanii H., Saijoh K.: Polymorphisms in the



- promoter region of the human class II alcohol dehydrogenase (ADH4) gene affect both transcriptional activity and ethanol metabolism in Japanese subjects. *J. Toxicol. Sci.*, 2009, 34(1):89-97
18. Bart G., Kreek M.J., Ott J., LaForge K.S., Proudnikov D., Pollak L., Heilig M.: Increased Attributable Risk Related to a Functional m-Opioid Receptor Gene Polymorphism in Association with Alcohol Dependence in Central Sweden. *Neuropsychopharmacology* (2005) 30, 417-422

19. Berrettini W.H., Lerman C.E.: Pharmacotherapy and Pharmacogenetics of Nicotine Dependence. *Am J Psychiatry* 2005; 162:1441-1451
20. Ehlers C.L., Lind P.A., Wilhelmsen K.C.: Association between single nucleotide polymorphisms in the mu opioid receptor gene (OPRM1) and self-reported responses to alcohol in American Indians. *BMC Medical Genetics* 2008, 9:35

4.7

Γονίδια και Χαρακτηριστικά Προσωπικότητας: Μελέτη της Επίδρασης του Γενετικού Υποβάθρου στη Νοημοσύνη και στη Λήψη Αποφάσεων σε 830 Έλληνες

Μαρίνος Γεώργιος, Ναζίρης Νικόλαος, Δρακούλης Νικόλαος

Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η νοημοσύνη συνίσταται από μία σειρά ικανοτήτων, καθοριστικών για το επίπεδο και τη δομή αυτής (π.χ. αντίληψη, μάθηση, προσαρμογή). Ως λήψη αποφάσεων, ορίζεται η συνειδητή επιλογή μεταξύ δεδομένων επιλογών, οι οποίες αφορούν ένα πρόβλημα. Το γονιδιακό υπόβαθρο και το περιβάλλον είναι τα καθοριστικά στοιχεία για τα άνωθεν χαρακτηριστικά της ανθρώπινης προσωπικότητας. Αντικείμενο της παρούσης μελέτης είναι να περιγράψει την επίδραση των γονιδίων rs324420, rs1800497, rs363050, rs6265, rs1328674 στα χαρακτηριστικά αυτά, σε 830 Έλληνες. Περιγράφεται ο πληθυσμός των εθελοντών, με βάση το γονότυπο, το φύλο, με τα αντίστοιχα ποσοστά, συμπεριλαμβανομένου και του Minor Allele Frequency (MAF). Ελέγχεται πιθανή συσχέτιση του γένους των εθελοντών με τα μελετώμενα χαρακτηριστικά (βάσει γονότυπων και απλότυπων) και τέλος, κατατάσσονται οι εθελοντές ως εξής: Ένας εθελοντής λαμβάνει +1, για κάθε γονότυπο/απλότυπο του, που ενισχύει τη νοημοσύνη ή τη λήψη αποφάσεων. Αντιθέτως, λαμβάνει -1, για κάθε γονότυπο/απλότυπο του, που υποβιβάζει το εκάστοτε χαρακτηριστικό. Δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική συσχέτιση φύλου-χαρακτηριστικών. Στο 92,5%, οι εθελοντές χαρακτηρίζονται από σύνεση και εγκράτεια σκέψης, μόνο με μια μικρή μερίδα αυτών, της τάξεως του 7,5%, να

είναι αυθόρμητοι και ριψοκίνδυνοι. Όσο αφορά τη νοημοσύνη, ο πληθυσμός κυμαίνεται γύρω από ένα μέσο όρο και λίγο πάνω από αυτόν, σε ποσοστό 96,3%, ενώ από τα άκρα της κλίμακας εξάγεται μόλις ένα 0,5%, οι οποίοι, αν και οι πλέον εξυπνότεροι, υστερούν κάπως σε σύνεση.

Βιβλιογραφία

1. Εγκυκλοπαίδεια Δομή, Λήμμα: «νοημοσύνη», Εκδόσεις Δομή Α.Ε., Έκδοση 2002-2005, Αθήνα, σελ. 15-16.
2. Χούτα Ε. Αμαλία, Διερεύνηση του επιπέδου συναισθηματικής νοημοσύνης σε επιλεγμένο δείγμα στελεχών του ευρύτερου δημόσιου τομέα-Θεωρητικό υπόβαθρο και εμπειρική διερεύνηση, Διπλωματική Εργασία, Πανεπιστήμιο Μακεδονίας, 2010.
3. Στάμου Μαρία, Η συναισθηματική νοημοσύνη στο χώρο της εργασίας, Διπλωματική εργασία - Πάντειο Πανεπιστήμιο. Τμήμα Ψυχολογίας, ΠΜΣ Οργανωτικής και Οικονομικής Ψυχολογίας, 2007
4. Εμμ. Κονδύλη, Η λήψη των αποφάσεων και τα προβλήματα κατά την υλοποίησή τους, Ανώτατη Βιομηχανική Σχολή Πειραιώς.
5. Σπύρος Τρύφωνας, Η δράση των συναισθημάτων στη λήψη αποφάσεων στους οργανισμούς, Διδακτορική Διατριβή, Τμήμα Επικοινωνίας και Μ.Μ.Ε, Ε.Κ.Π.Α, 2008.
6. Mary Jeanne Kreek et al., Genetic influences on impulsivity, risk taking, stress responsivity and vulnerability to drug abuse and addiction, *Nature Neuroscience* 8, 1450 - 1457 (2005).
7. Carmen Mazzola et al., Fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibition enhances memory acquisition through activation of



- PPAR- α nuclear receptors, *Learn Mem.* 2009 May; 16(5): 332–337.
8. Savitz J, Solms M et al., The molecular genetics of cognition: dopamine, COMT and BDNF, *Genes Brain Behav.* 2006 Jun;5(4):311-28.
 10. Michio Nomura et al., Involvement of a polymorphism in the 5-HT2A receptor gene in impulsive behavior, *Psychopharmacology* (2006) 187: 30–35.
 11. D. Erritzoe et al., Brain serotonin 2A receptor binding: Relations to body mass index, tobacco and alcohol use, *NeuroImage*, 46 (20 09) 23–30.
 12. Kevin M. Sullivan, «2x2 Table-Version 4.12.14»: <http://www.sph.emory.edu/~cdckms/ctab-logbased-exact.html> Access Date: 31/12/2012.
 13. Wendy Wood et al., Chapter two – Biosocial Construction of Sex Differences and Similarities in Behavior, *Advances in Experimental Social Psychology*, Volume 46, 2012, Pages 55–123.
 14. Jill B. Becker et al., Sex differences in drug abuse *Frontiers in Neuroendocrinology*, Volume 29, Issue 1, January 2008, Pages 36–47.
 15. Kenneth A. Perkins et al., Gene and Gene by sex Associations with initial Sensitivity to nicotine in Nonsmokers, *Behav Pharmacol.* 2008 September; 19(5-6): 630–640.
 16. Claire M. Brabec et al., An exploration of relationships among measures of social cognition, decision making, and emotional intelligence, *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology* Volume 34, Issue 8, 2012.
 17. Melissa T. Buelow et al., Personality characteristics and state mood influence individual deck selections on the Iowa Gambling Task, *Personality and Individual Differences*, Volume 54, Issue 5, April 2013, Pages 593–597.
 18. Weller JA et al, Do individual differences in Iowa Gambling Task performance predict adaptive decision making for risky gains and losses?, *J Clin Exp Neuropsychol.* 2010 Feb;32(2):141-50.
 19. Ruud van den Bos et al., A critical review of sex differences in decision-making tasks: Focus on the Iowa Gambling Task, *Behavioural Brain Research*, Volume 238, 1 February 2013, Pages 95–108.
 20. Thomas W. McAllister et al., Single Nucleotide Polymorphisms in ANKK1 and the Dopamine D2 Receptor Gene Affect Cognitive Outcome Shortly After Traumatic Brain Injury: A Replication and Extension Study, *Brain Inj.* 2008 August; 22(9): 705–714
- URL: GeneCards, 5-HT2A: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=HTR2A&search=5-ht2a>, ANKK1: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ANKK1> Access Date: 26/8/2012.
- NCBI, BDNF: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/627>, Access Date: 20/1/2013.
- MAF: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/docs/rs_attributes.html#gmaf, Access Date: 20/1/2013.
- rs1328674: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1328674, Access Date: 20/1/2013.
- rs1800497: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1800497, Access Date: 20/1/2013.
- rs324420: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=324420, Access Date: 20/1/2013.
- rs363050: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=363050, Access Date: 20/1/2013.
- rs6265: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=6265 Access Date: 20/1/2013.
- NFSTC: http://www.nfstc.org/pdi/Subject07/pdi_s07_m01_02_b.htm Access Date: 29/1/2013
- SNPedia, rs1800497: <http://snpedia.com/index.php/Rs1800497>, rs324420: <http://snpedia.com/index.php/Rs324420>, rs363050: <http://www.snpedia.com/index.php/Rs363050>, rs6265: <http://snpedia.com/index.php/Rs6265>, Access Date: 20/1/2013.
- UniProt, 5-HT2A: <http://www.uniprot.org/uniprot/P28223>, FAAH: <http://www.uniprot.org/uniprot/O00519>, SNAP-25: <http://www.uniprot.org/uniprot/P60880> Access Date: 16/1/2012.



Ορθοπαιδική - Αθλητιατρική

5.1

Σχέση των Πολυμορφισμών των Γονιδίων του Κολλαγόνου Τύπου 1 (COL1A1) και του Υποδοχέα των Οιστρογόνων (ESR1) με την Οστεοπόρωση σε Ελληνικό Πληθυσμό

Κουτρομάνου Αικατερίνη, Ρετζεπέρη-Μιχαλάκου Ευανθία, Δρακούλης Νικόλαος

Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η οστεοπόρωση είναι μία πολυπαραγοντική νόσος, η οποία επηρεάζεται από πολλαπλούς παράγοντες καθώς και από τις αλληλεπιδράσεις τους. Σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της οστικής πυκνότητας παίζουν επίσης και οι γενετικοί παράγοντες. Στη παρούσα μελέτη αναλύθηκαν δείγματα γενετικού υλικού που απομονώθηκαν από 311 εθελοντές ελληνικής καταγωγής, καυκάσιους, κάτοικους της Ελλάδας. Συγκεκριμένα, μελετήθηκε ο σημειακός νουκλεοτιδικός πολυμορφισμός γουανίνη/θυμίνη (G/T) του γονιδίου του κολλαγόνου τύπου 1 (COL1A1) και δύο πολυμορφισμοί του γονιδίου του υποδοχέα των οιστρογόνων (ESR1). Οι δύο σημειακοί νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί στο πρώτο ιντρόνιο του γονιδίου του υποδοχέα των οιστρογόνων αναγνωρίζονται από τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες PvuII, όταν υπάρχει αλλαγή μιας θυμίνης σε κυτοσίνη (T/C) και XbaI όταν υπάρχει αλλαγή αδενίνης σε γουανίνη (A/G). Βασικό εύρημα της συγκεκριμένης έρευνας είναι η ύπαρξη της ίδιας πιθανότητας εμφάνισης των πολυμορφισμών G/T, T/C, A/G στα γονίδια COL1A1, ESR1 (PvuII), ESR1 (XbaI) αντίστοιχα, σε άνδρες και γυναίκες. Η παρουσία των πολυμορφισμών αυτών, ενδεχομένως, αποτελεί έναν καλό δείκτη προδιάθεσης για εμφάνιση καταγμάτων, ανεξάρτητα από τη μέτρηση του BMD και ανεξάρτητα από το φύλο. Περεταίρω μελέτη των πολυμορφισμών αυτών σε άτομα με κλινικά διαγνωσμένη οστεοπόρωση, είναι απαραίτητη ώστε να χρησιμοποιούνται ως για την προληπτική καθοδήγηση ασθενών υψηλού κινδύνου.

Βιβλιογραφία

1. Raisz LG and Rodan GA. Pathogenesis of osteoporosis. Endocrinol Metab clin N Am, 2003,32, pp: 15-24.

2. Λυρίτης ΓΠ, Οστεοπόρωση, Εκδόσεις Press line, Αθήνα 1996.
3. Cecil, Μουτσοπουλος Χ, Παθολογία, ιατρικές εκδόσεις Λίτσας Αθήνα 2000,4^η έκδοση.
4. Peacock Munro, Turner Charles H., Econs Michael J., Foroud Tatiana. Genetics of osteoporosis. Endocrine Reviews 2002.
5. Brown Jacques P., Josse Robert G. The Scientific Advisory Council of the Osteoporosis Society of Canada. 2002 clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada. CMAJ November 12, 2002 :167(90100)
6. <http://www.nof.org> National Osteoporosis Foundation
7. Rizzoli, R, Bonjour, J-P, Ferrari, S. L. Osteoporosis, genetics and hormones. Journal of Molecular Endocrinology 2001 26: 79-94.
8. <http://www.FDA.GOV>
9. Παπαδόπουλος, Κατευθυντήριες γραμμές για τη διάγνωση, πρόληψη και θεραπεία της μετεμμηνοπαυσιακής βλάβης των οστών, Ελληνική Μαιευτική και Γυναικολογία 2007, 19(3):264-277.
10. Huang Aj et al, Endogenous estrogen levels and the effects of ultra-low-dose transdermal estradiol therapy on bone turnover and BMD in postmenopausal women. J Bone Miner Res 2007, 22:1791-1799.
11. Pines A et al. HRT in the early menopause: Scientific evidence and common perceptions. Climacteric 2008, 11:267-272.
12. Miller PD, et al. Effect of denosumab on bone density and turnover in postmenopausal women with low bone mass after long-term continued, discontinued, and restarting of therapy: a randomized blinded phase 2 clinical trial. Bone. 2008; 43: 222-229.
13. Cummings SR, et al. The effects of tibolone in older postmenopausal women. N Engl J Med. 2008; 359: 697-708.
14. Roche Genetics, Εκπαιδευτικό πρόγραμμα. F. Hoffmann-La Roche Ltd. Έκδοση 5.0.0P.
15. <http://www.roche-applied-science.com> Roche Diagnostics



5.2

Συσχετισμός των γονιδίων COL5A1, MMP3 και COL1A1 με τραυματισμούς μετά από σωματική άσκηση σε δείγμα ελληνικού πληθυσμού

Ζούλη Καλλιόπη, Δρακούλης Νικόλαος

Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Τένοντες και σύνδεσμοι των άνω και κάτω άκρων είναι μερικές από τις πλέον συνήθεις περιοχές εκδήλωσης μυοσκελετικών τραυματισμών κατά τη φυσική δραστηριότητα. Αρκετοί εξωγενείς και ενδογενείς παράγοντες φαίνεται να συνδέονται με τους συγκεκριμένους τραυματισμούς. Πρόσφατα, μελέτες πρότειναν την ύπαρξη γενετικής συνιστώσας στους τραυματισμούς του Αχιλλείου τένοντα (AT) και του πρόσθιου χιαστού συνδέσμου (ACL). Παραλλαγές στην αλληλουχία των γονιδίων COL5A1, MMP3 και COL1A1 φέρεται να σχετίζονται με τενοντοπάθειες στον AT και ρήξεις του ACL. Τα γονίδια αυτά είναι υπεύθυνα για την κωδικοποίηση πρωτεϊνών με άμεση συμμετοχή σε βιολογικές διεργασίες εντός των τενόντων και των συνδέσμων. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της υπάρχουσας σχέσης μεταξύ παραλλαγών στα γονίδια COL5A1, MMP3 και COL1A1 και τραυματισμών του AT και του ACL, σε δείγμα ελληνικού πληθυσμού. Συνολικά, 689 εθελοντές επιστρατεύθηκαν για τη συγκεκριμένη μελέτη γενετικού συσχετισμού. Πραγματοποιήθηκε χαρτογράφηση του γονιδιώματος όλων των συμμετεχόντων με σκοπό τον εντοπισμό των σημειακών νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών COL5A1 rs12722 (C/T), MMP3 rs679620 (A/G) και COL1A1 rs1800012 (G/T). Ο συνδυασμός γονοτύπων CT+AG+GG βρέθηκε υπερεκπεφρασμένος στον εξεταζόμενο πληθυσμό (103 άτομα, 14,9%), ενώ οι συνδυασμοί CC+AG+TT και TT+GG+GG είχαν μικρή εκπροσώπηση (0,3% και 5,8%, αντίστοιχα). Η παρούσα μελέτη κατέδειξε ότι η χρόνια τενοντοπάθεια του AT και η ρήξη του ACL είναι δύο σαφώς διαφορετικές παθολογικές οντότητες, για τις οποίες υφίσταται γενετική προδιάθεση. Επιπλέον, ένα μικρό μόνο ποσοστό του εξεταζόμενου ελληνικού πληθυσμού φάνηκε να διαθέτει προστασία και για τους δύο τραυματισμούς.

Τέλος, άτομα που διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο για ATP και ρήξεις του ACL, διέθεταν μικρή εκπροσώπηση στην ομάδα.

Βιβλιογραφία

1. September Alison V, Schwellnus Martin P, Collins Malcolm. Tendon and ligament injuries: the genetic component. Br J Sports Med. 2007, 41, σσ. 241-46.
2. Riley G. Chronic tendon pathology: molecular basis and therapeutic implications. Expert Reviews in Molecular Medicine. 24 March 2005, 7 (5), σσ. 1-25.
3. Lesic A, Bumbasirevic M. Disorders of the Achilles tendon. Current Orthopaedics. 2004, 18, σσ. 63-75.
4. Riley G. The pathogenesis of tendinopathy. A molecular perspective. Rheumatology. 2004, 43, σσ. 131-42.
5. Medicine, The American Orthopaedic Society for Sports. Anterior Cruciate Ligament Injuries. 2009.
<http://orthoinfo.aaos.org/topic.cfm?topic=a00549>.
6. Frank C.B., Hart D.A., Shrive N.G., Molecular biology and biomechanics of normal and healing ligaments—a review. Osteoarthritis and Cartilage. 1999, 7, σσ. 130-140.
7. Frank C.B. Ligament structure, physiology and function. J Musculoskelet Neuronal Interact. 2004, 4, σσ. 199-201.
8. Foster B.P., Morse C.I., Onambele G.L., Ahmetov I.I. and Williams A.G.. Genetic Variation, Protein Composition and Potential Influences on Tendon Properties in Humans. The Open Sports Medicine Journal. 2012, 6, σσ. 8-21.
9. Mokone GG, Schwellnus MP, Noakes TD, et al. The COL5A1 gene and Achilles tendon pathology. Scand J Med Sci Sports. 2006, 16, σσ. 19-26.
10. September AV, Cook J, Handley CJ, et al. Variants within the COL5A1 gene are associated with achilles tendinopathy in two populations. Br J Sports Med. 5, 2008, 43, σσ. 357-65.



11. Posthumus M, September AV, O'Cuinneagain D, et al. The COL5A1 gene is associated with increased risk of anterior cruciate ligament ruptures in female participants. *Am J Sports Med.* 2009, 37, σσ. 2234–2240.
12. Raleigh SM, van der Merwe L, Ribbans WJ, et al. Variants within the MMP3 gene are associated with Achilles tendinopathy: possible interaction with the COL5A1 gene. *Br J Sport Med.* 2009, 43, σσ. 514–20.
13. Posthumus M, Collins M, van der Merwe L, et al. Matrix metalloproteinase genes on chromosome 11q22 and the risk of anterior cruciate ligament (ACL) rupture. *Scand J Med Sci Sports.* 2012, 22, σσ. 523–533.
14. Malila S, Yuktanandana P, Saowaprut S, et al. Association between matrix metalloproteinase-3 polymorphism and anterior cruciate ligament ruptures. *Genetics and Molecular Research.* 2011, 10 (4), σσ. 4158–4165.
15. Khoschnau S, Melhus H, Jacobson A, et al. Type I collagen alpha1 Sp1 polymorphism and the risk of cruciate ligament ruptures or shoulder dislocations. *Am J Sports Med.* 2008, 36, σσ. 2432–6.
16. Posthumus M, September AV, Keegan M, et al. Genetic risk factors for anterior cruciate ligament ruptures: COL1A1 gene variant. *Br J Sports Med.* 2009, 43, σσ. 352–6.
17. Friedberg Ryan P. Patient information: Anterior cruciate ligament injury (Beyond the Basics). s.l: Fields Karl B, Grayzel Jonathan, 2012. <http://www.uptodate.com/contents/anterior-cruciate-ligament-injury-beyond-the-basics>.

5.3

Ανάλυση των πολυμορφισμών RS2476601, RS3761847, RS660895 και RS7574865 που εμπλέκονται στις διαφορετικές κλινικές και ανοσολογικές εκδηλώσεις της Ρευματοειδούς Αρθρίτιδας

Καρανίκα Ιωάννα, Δρακούλης Νικόλαος

Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η Ρευματοειδής Αρθρίτιδα είναι μία πολυπαραγοντική νόσος, οι πιθανές γενετικές συνιστώσες της οποίας ερευνώνται συνεχώς και συστηματικά. Η ανακάλυψη Σημειακών Νουκλεοτιδικών Πολυμορφισμών (Single Nucleotide Polymorphism, SNPs) με την προσθήκη, απαλοιφή ή και αλλαγή μιας βάσης οδήγησαν στην ανεύρεση νέων γενετικών συσχετίσεων με την νόσο. Στόχος της μελέτης είναι να καταδειχθεί πως οι πολυμορφισμοί συγκεκριμένων γενετικών τόπων με RS2476601, RS3761847, RS660895 και RS7574865 επηρεάζουν τις διάφορες κλινικές και ανοσολογικές εκδηλώσεις της ΡΑ, ώστε να χρησιμοποιηθεί τόσο για τη καλύτερη κατανόηση της νόσου, όσο και την επιτυχέστερη θεραπευτική προσέγγιση. Η ανάλυση που διεξήχθη, πραγματοποιήθηκε σε δείγμα υγιών ατόμων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο γονότυπος GA του πολυμορφισμού RS660895 αποτελεί το 17,37% του δείγματος, ενώ ο GG το 2,12%, με τον πολυμορφισμό RS3761847 να εμφανίζεται σε ποσοστό 11,44% ως GG και 44,91% ως GA, ενώ ο RS2476601 ως GA να αποτελεί το

8,26% και ως AA το 0,21%. Ο πολυμορφισμός RS7574865, ως ομόζυγος TT αποτελεί το 6,57%, ενώ ο GT το 39,40%.

Συμπερασματικά, βρέθηκε ότι και οι 4 πολυμορφισμοί απαντώνται στον Ελληνικό πληθυσμό, ωστόσο, ο RS3761847 μαζί με τον RS7574865 παρουσιάζουν μεγαλύτερες MAF (Minor Allele Frequency) και πιθανόν να ευθύνονται για αύξηση της προδιάθεσης ανάπτυξης ΡΑ.

Βιβλιογραφία

1. Andrianakos, P. Trontzas, F. Christoyannis, E. Kaskani, Z. Nikolia, E. Tavaniotou1, A. Georgountzos and P. Krachtis Prevalence and management of rheumatoid arthritis in the general population of Greece *Rheumatology (Oxford).* 2006 Dec;45(12):1549–54.
2. Jarvinen P, Aho K. Twin studies in rheumatic diseases. *Semin Arthritis Rheum.* 1994;24(1):19–28.
3. Silman AJ, MacGregor AJ, Thomson W, et al. Twin concordance rates for rheumatoid arthritis: results from a nationwide study. *Br JRheumatol.* 1993;32(10):903–907
4. MacGregor AJ, Snieder H, Rigby AS, et al. Characterizing the quantitative genetic



- contribution to rheumatoid arthritis using data from twins. *Arthritis Rheum.* 2000;43(1):30-37.
5. Γερμενής Α .Μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας. Ιατρική Ανοσολογία, εκδ. Παπαζήσης Αθήνα 2000: 83-96.
 6. Deighton CM , Walker DJ,Griffiths ID,Roberts DF. The contribution of HLA to rheumatoid arthritis *Clin Genet.* 1989 Sep;36(3):178-82.
 7. Gregersen PK, Silver J,Winchester RJ. The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism* November 1987 pages 1205-1213.
 8. Cornelia M. Weyand, Congping Xie, and Jorg J. Goronzy «Homozgosity for the HLA-DRB1 Allele Selects for Extraarticular Manifestations in Rheumatoid Arthritis» *The Journal of Clinical Investigation, Inc.* Volume 89, June 1992, 2033-2039
 9. Invernizzi P and Gershwin EM. The genetics of human autoimmune disease. *J Autoimmun* 2009; 33: 290-299.
 10. Mustelin T, Vang T, Bottini N. Protein tyrosine phosphataes and the immune response. *Nat Rev Immunol* 2005; 5: 43-57.
 11. Ounissi-Benkalha H, Polychronakos C. The molecular genetics of type 1 diabetes: new genes and emerging mechanisms. *Trends in Mol Med* 2008; 14: 268-275.
 12. Yonghong L,Begovich AB.Unravelling the genetics of complex deseases:Susceptibility genes for rheumatoid arthritis and psoriasis.*Semin.Imunol* 2009;21:318-327
 - 1.3 Aarnisalo J,Treszl A, Svec P.,Marttila J, Oling V, Simel O et al.Reduced CD4+Tcell activation in children with type 1 diabetes carrying the PTPN22/Lyp620 Trp variant. *J Autoimmun* 2008,31:13-21
 14. Lee AT, Li W, Liew A, Bombardier C, Weisman M, Massarotti EM, Kent J, Wolfe F, Begovich AB, Gregersen PK The PTPN22 R620W polymorphism associates with RF positive rheumatoid arthritis in a dose-dependent manner but not with HLA-SE status. *Genes Immun.* 2005 Mar;6(2):129-33
 15. Marthur AN,Chang HC,Zisoulis DG,Stritetsky GL, Yu O, O'Malley JT et al. Stat3 and Stat4 direct development of Il-17 secreting Th cells.*J.Immunol* 2007;178:4901-4907
 16. Remmers EF, Plenge RM, Lee AT, Graham RR, Hom G, Behrens TW, de Bakker PI, Le JM, Lee HS, Batliwalla F, Li W, Masters SL, Booty MG, Carulli JP, Padyukov L, Alfredsson L, Klareskog L, Chen WV, Amos CI, Criswell LA, Seldin MF, Kastner DL, Gregersen PK. STAT4 and the risk of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus *N Engl J Med.* 2007 Sep 6;357(10):977-86.
 17. Ya-ling Liang • Hua Wu • Xi Shen •Pei-qiang Li • Xiao-qing Yang • Li Liang •Wei-hua Tian • Li-feng Zhang • Xiao-dong Xie Association of STAT4 rs7574865 polymorphism with autoimmune diseases: a meta-analysis *Mol Biol Rep* (2012) 39:8873-8882
 18. Chang M, Rowland CM, Garcia VE, Schrodi SJ, Catanese JJ, van der Helm-van Mil AH, Ardlie KG, Amos CI, Kastner DL, Gregersen PK, Kurreeman FA, Toes RE, Huizinga TW, Seldin MF, Begovich AB. A large-scale rheumatoid arthritis genetic study identifies association at chromosome 9q33.2. *PLoS Genet.* 2008 Jun 27;4(6):e1000107.
 19. Jong Dae Ji Z Won Jin Lee Z Kyoung Ae Kong Z Jin Hyun Woo Z Seong Jae Choi Z Young Ho Lee Z Gwan Gyu Song Association of STAT4 polymorphism with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Mol Biol Rep* (2010) 37:141-147
 20. S. Maddali Bongli, B. Porfirio, G. Rombolà c,A. Palasciano c, E. Beneforti, G. Bianucci «Shared-epitope HLA-DRB1 alleles and sex ratio in Italian patients with rheumatoid arthritis.» *Joint Bone Spine* 71 (2004) 24-2



Καρκίνος

6.1

Μελέτη της επίπτωσης του επικρατούς σημειακού νουκλεοτιδικού πολυμορφισμού (SNP) rs6983267, στη περιοχή 3 του χρωμοσώματος 8q24 στο καρκίνο του προστάτη σε Έλληνες ασθενείς και υγιείς εθελοντές.

Παπανικολοπούλου Αμαλία¹, Reczko Martin², Ντούμας Κωνσταντίνος³, Μπολομίτης Στέφανος³, Τυριτζής Σταύρος⁴, Κωνσταντινίδης Κωνσταντίνος⁴, Δρακούλης Νικόλαος¹

¹Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

²Biomedical Sciences Research Center, Alexander Fleming, Βάρη

³Ουρολογική Κλινική, Γενικό Κρατικό Νοσοκομείο Γεννηματάς, Αθήνα

⁴Α' Πανεπιστημιακή Ουρολογική Κλινική, Νοσοκομείο Λαϊκό, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ο καρκίνος του προστάτη είναι ο πιο συχνός καρκίνος που διαγιγνώσκεται στους άνδρες και η δεύτερη αιτία θανάτου για αυτούς στην Ευρωπαϊκή ένωση. Οι μόνοι επιβεβαιωμένοι παράγοντες κινδύνου για να αναπτύξει κάποιος καρκίνο του προστάτη είναι η ηλικία, το οικογενειακό ιστορικό και η φυλή. Γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες συνεισφέρουν σε αυτές τις διαφορές. Επίσης πολλές γενωμικές μελέτες συσχέτισης έχουν διεξαχθεί και πολλαπλές χρωμοσωμικές περιοχές έχουν περιγραφεί. Σε άνδρες με Ευρωπαϊκή καταγωγή ο πολυμορφισμός rs6983267 στη περιοχή 3 του χρωμοσώματος 8q24, έχει δείξει τον μεγαλύτερο κίνδυνο στους άνδρες φορείς και στην εμφάνιση της νόσου στο πληθυσμό (odds ratio και PAR%). Εξετάσαμε την συχνότητα αυτού του πολυμορφισμού σε Έλληνες ασθενείς και μάρτυρες και τη συσχέτιση του με το καρκίνο του προστάτη.

Μέθοδοι: Συμμετείχαν 109 ασθενείς με επιβεβαιωμένο καρκίνο του προστάτη μέσω βιοψίας από δύο Γενικά νοσοκομεία της Αθήνας και 99 Μάρτυρες εντελώς υγιείς ελεύθεροι από οποιοδήποτε ιστορικό καρκίνου. Η γονοτύπηση πραγματοποιήθηκε με ανάλυση των καμπύλων τήξης για τον rs6983267 που προέκυψαν με τη μέθοδο Real-Time PCR του συστήματος LightCycler 480 (Roche Diagnostics, Germany).

Αποτελέσματα: Με τη χρήση της αδέσμευτης λογιστικής παλινδρόμησης και προσαρμογή στην ηλικία του πληθυσμού της μελέτης, το καλύτερο γενετικό μοντέλο κληρονομότητας για

τον rs6983267 είναι το επικρατές. Η ανάλυση του rs6983267 ανέδειξε σημαντικές διαφορές στους γονότυπους (OR=2,83, 95%C.I.=1,38-6,00, p=0,002) και στα αλληλόμορφα (OR=2,06, 95%C.I.=1,33-3,02, p=0,001) μεταξύ ασθενών και μαρτύρων. Ελαφρείς (Packyears, PY<10) και βαρείς (PY>30) καπνιστές συσχετίστηκαν θετικά με το καρκίνο του προστάτη. Φορείς του rs6983267 και θετικό ιστορικό καπνίσματος εμφάνισαν αθροιστικό κίνδυνο (OR_{adj}=21.36, C.L.=3.79-120.39) να αναπτύξουν τη νόσο. Κανένα από τα κλινικά χαρακτηριστικά (επιθετικότητα νόσου, PSA ορού) δεν συσχετίστηκαν με τον rs6983267.

Συμπεράσματα: Από τα ευρήματα αυτής της μελέτης επιβεβαιώσαμε τη συσχέτιση του rs6983267 στο chr8q24 με το καρκίνο του προστάτη σε Έλληνες ασθενείς, ο οποίος αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για τους φορείς να εμφανίσουν τη νόσο. Σε συνδυασμό με το κάπνισμα, προσδίδει αθροιστικό κίνδυνο για τη νόσο, εκτός από τους επιβεβαιωμένους παράγοντες κινδύνου όπως η ηλικία, το οικογενειακό ιστορικό και η φυλή.

Βιβλιογραφία

1. Ferlay J, Autier P, Boniol M, Heanue M, Colombet M, Boyle P. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. Ann Oncol. 2007 Mar; **18** (3):581-92.
2. Crawford ED. Epidemiology of prostate cancer. Urology 2003;**62**:3-12.



3. Eckersberger E, Finkelstein J, Sadri H, Margreiter M, Taneja SS, Lepor H, Djavan B. Screening for Prostate Cancer: A Review of the ERSPC and PLCO Trials. *Rev Urol.* 2009 Summer;**11**(3):127-33.
4. Xu J, Dimitrov L, Chang BL, Adams TS, Turner AR, Meyers DA, Eeles RA, et al.; ACTANE Consortium. A combined genomewide linkage scan of 1,233 families for prostate cancer-susceptibility genes conducted by the international consortium for prostate cancer genetics. *Am J Hum Genet.* 2005Aug;**77**(2):219-229.
5. Liu H, Wang B, Han C. Meta-analysis of genome-wide and replication association studies on prostate cancer. *Prostate.* 2011 Feb 1;**71**(2):209-24.
6. Xu Z, Bensen JT, Smith GJ, Mohler JL, Taylor JA. GWAS SNP Replication among African American and European American men in the North Carolina-Louisiana prostate cancer project (PCaP). *Prostate.* 2011 Jun 1;**71**(8):881-91.
7. Gudmundsson J, Sulem P, Manolescu A, Amundadottir LT, Gudbjartsson D, Helgason A, et al. Genome-wide association study identifies a second prostate cancer susceptibility variant at 8q24. *Nat Genet.* 2007 May;**39**(5):631-7.
8. Yeager M, Orr N, Hayes RB, Jacobs KB, Kraft P, Wacholder S, et al. Genome-wide association study of prostate cancer identifies a second risk locus at 8q24. *Nat Genet.* 2007 May;**39**(5):645-649.
9. Haiman CA, Patterson N, Freedman ML, Myers SR, Pike MC, Waliszewska A, et al. Multiple regions within 8q24 independently affect risk for prostate cancer. *Nat Genet.* 2007 May;**39**(5):638-644.
10. Zheng SL, Sun J, Cheng Y, Li G, Hsu FC, Zhu Y, et al. Association between two unlinked loci at 8q24 and prostate cancer risk among European Americans. *J Natl Cancer Inst.* 2007 Oct 17;**99**(20):1525-1533.
11. Robbins C, Torres JB, Hooker S, Bonilla C, Hernandez W, Candreva A, Ahaghotu C, Kittles R, Carpten J. Confirmation study of prostate cancer risk variants at 8q24 in African Americans identifies a novel risk locus. *Genome Res.* 2007 Dec;**17**(12):1717-22.
12. Zheng SL, Sun J, Wiklund F, Smith S, Stattin P, Li G, Adami HO, et al. Cumulative Association of Five Genetic Variants with Prostate Cancer. *N Engl J Med.* 2008 Feb 28;**358**(9):910-919.
13. Al Olama AA, Kote-Jarai Z, Giles GG, Guy M, Morrison J, Severi G, et al. Multiple loci on 8q24 associated with prostate cancer susceptibility. *Nat Genet.* 2009 Oct;**41**(10):1058-60.
14. Amundadottir LT, Sulem P, Gudmundsson J, Helgason A, Baker A, Agnarsson BA, et al. A common variant associated with prostate cancer in European and African populations. *Nat Genet.* 2006 Jun;**38**(6):652-8.
15. Yeager M, Xiao N, Hayes RB, Bouffard P, Desany B, Burdett L, et al. Comprehensive resequence analysis of a 136 kb region of human chromosome 8q24 associated with prostate and colon cancers. *Hum Genet.* 2008 Sep;**124**(2):161-170.
16. Haiman CA, Le Marchand L, Yamamoto J, Stram DO, Sheng X, Kolonel LN, Wu AH, Reich D, Henderson BE. A common genetic risk factor for colorectal and prostate cancer. *Nat Genet.* 2007 Aug;**39**(8):954-6.
17. Wokolorczyk D, Gliniewicz B, Sikorski A, Zlowocka E, Masojc B, Debniak T, et al. A range of cancers is associated with the rs6983267 marker on chromosome 8. *Cancer Res.* 2008 Dec 1;**68**(23):9982-9986.
18. Park SL, Chang SC, Cai L, Cordon-Cardo C, Ding BG, Greenland S, et al. Associations between variants of the 8q24 chromosome and nine smoking-related cancer sites. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008 Nov;**17**(11):3193-3202.
19. Yeager M, Xiao N, Hayes RB, et al: Comprehensive resequence analysis of a 136 kb region of human chromosome 8q24 associated with prostate and colon cancers. *Hum Genet* 2008;**124**:161-170.
20. Wokolorczyk D, Gliniewicz B, Sikorski A, et al: A range of cancers is associated with the rs6983267 marker on chromosome 8. *Cancer Res* 2008;**68**: 9982-9986.



6.2

Γονιδιακά Hotspots Προδιάθεσης Ανάπτυξης Καρκίνου του Μαστού: Μελέτη της Συχνότητας Εμφάνισης σε Εθελοντές Ελληνικής Καταγωγής

Κάτσα Ειρήνη, Ξενέλλη Βασιλική, Δρακούλης Νικόλαος

Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Όλες οι γυναίκες (ενίοτε και άνδρες), διατρέχουν σε κάποιο βαθμό, κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Εντούτοις, για κάποια άτομα, ο κίνδυνος αυτός είναι μεγαλύτερος, σε σχέση με το γενικό πληθυσμό, λόγω της ύπαρξης παραλλαγών που μπορεί να έχουν κληρονομήσει. Στην παρούσα μελέτη, εξετάσαμε με real time PCR, στο γονίδιο BRCA1 τους πολυμορφισμούς: RS1799950, 185del AG, 5331GA, 5382insC και R1751X και στο γονίδιο BRCA2 τους πολυμορφισμούς: RS144848, G4X και 617delT. Το BRCA1 και το BRCA2, είναι ογκοκατασταλτικά γονίδια και μεταλλάξεις σε αυτά, προκαλούν απορρύθμιση, οδηγώντας σε ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των κυττάρων και τη δημιουργία νεοπλασίας. Τα γονίδια TNFα και IL6, είναι γνωστά ως γενικοί δείκτες φλεγμονής, αλλά έχουν επιπλέον αγγειογενετικές και ογκογενετικές ιδιότητες. Πολυμορφισμοί στο γονίδιο CHEK2 (RS17879961), μειώνουν τη δραστηριότητα του γονιδίου, με αποτέλεσμα την αδυναμία επιδιόρθωσης του γονιδιώματος. Ο πολυμορφισμός RS2273535, στο γονίδιο AURKA, έχει συσχετισθεί με ανώμαλο διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων και προδιάθεση για καρκίνο. Ο πολυμορφισμός RS2981582, αλλοιώνει την παραγόμενη από το γονίδιο FGFR2 πρωτεΐνη, με αποτέλεσμα την υπερευαισθησία στον καρκίνο του μαστού. Τέλος, έχει παρατηρηθεί ότι, αυξημένα επίπεδα της αυξητικής ορμόνης που εκφράζεται από το γονίδιο IGF1 (RS7965399), αυξάνουν τον κίνδυνο στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες για καρκίνο του μαστού. Η συχνότητα εμφάνισης των προαναφερθέντων πολυμορφισμών υπολογίστηκε σε 513 Ελληνίδες, με σκοπό τη διερεύνηση πιθανούς προδιάθεσης ανάπτυξης καρκίνου του μαστού. Για το γονίδιο BRCA1, στον πολυμορφισμό RS1799950 παρατηρήθηκαν 79,49% A:A- 19,45% A:G- 1,06% G:G, με αρχέγονο αλληλόμορφο, το A. Όλοι οι υπόλοιποι εξετασθέντες

πολυμορφισμοί του BRCA1 είναι αρχέγονοι. Για το γονίδιο BRCA2, μόνο ο πολυμορφισμός RS144848 ανέδειξε μεταλλάξεις με 5,36% G:G του πληθυσμού- 54,85% T:T -39,79% G:T. Για τον TNFα, οι ομόζυγοι μεταλλαγμένοι ήταν 0,84% A:A- 84,10% G:G- 15,06% G:A. Τα αποτελέσματα της IL6, ήταν 55,04% G:G- 38,45% C:G- 6,51% C:C (G το αρχέγονο). Για το CHEK2, 98,90% T:T -1,10% C:T και κανένα C:C (T αρχέγονο) και για το γονίδιο AURKA, παρατηρήθηκαν 62,97% A:A- 33,26% T:A- 3,77% T:T (A το αρχέγονο). Τέλος, για το γονίδιο FGFR2, τα ποσοστά ήταν 29,30% C:C- 52,56% C:T- 18,14% T:T, και για το γονίδιο IGF1, 92,03% T:T- 7,54% C:T- 0,43% C:C (με αρχέγονο το T). Η έγκαιρη αποκάλυψη παραλλαγών είναι σημαντική, διότι με επιλογές πρώιμης θεραπευτικής παρέμβασης ακόμα και πριν την εμφάνιση της νόσου, προάγεται η υγεία και καθίσταται δυνατή η λήψη αποφάσεων οικογενειακού προγραμματισμού, διαπροσωπικών σχέσεων, της κοινωνικής και επαγγελματικής τους ζωής.

Βιβλιογραφία

1. Mandal Ananya, παρουσίαση της μελέτης: «Breast Cancer Epidemiology», <http://www.news-medical.net/health/Breast-Cancer-Epidemiology.aspx> (Accessed 31/01/2013)
2. WHO Breast cancer: prevention and control. <http://www.who.int/cancer/detection/breastcancer/en/index2.html> (Accessed 31/01/2013)
3. Νέτα Σοφία, παρουσίαση της μελέτης: «Καρκίνος του μαστού: Εμφανίζεται συχνότερα, αντιμετωπίζεται αποτελεσματικότερα.» 2009, (Accessed 31/01/2013)
4. European Age-Standardised res calculated by the Stistical Informion Team Cancer Research UK, 2011 using da from GLOBOCAN 2008 v1.2, IARC, version 1.2.
5. Cancer. Net editorial board, The genetics of breast cancer, 4/2011, <http://www.cancer.net/all-about-cancer/>



- genetics/genetics-breast-cancer (Accessed 31/01/2013)
6. BRCA1, Lister Hill Nional Center for Biomedical__Communicions, U.S. Nional Library of__Medicine, Nional Institutes of Health Department of Health & Human Services, USA.gov <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/BRCA1>, 2007 (Accessed 31/01/2013)
 7. BRCA2, Lister Hill Nional Center for Biomedical__Communicions, U.S. Nional Library of__Medicine, Nional Institutes of Health Department of Health & Human Services, USA.gov <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/BRCA2>, 2007 (Accessed 31/01/2013)
 8. Wikipedia contributors. "BRCA1."Wikipedia, The Free Encyclopedia. Wikipedia, The Free Encyclopedia, 25 Jan. 2013. Web. 31 Jan. 2013.
 9. Wikipedia contributors. "BRCA2."Wikipedia, The Free Encyclopedia. Wikipedia, The Free Encyclopedia, 25 Jan. 2013. Web. 31 Jan. 2013.
 10. Παπαθανασίου Παντελής, Ογκοκατασταλτικά γονίδια BRCA1 και BRCA2, 4/2011, http://www.ioanninamed.gr/index.php?option=com_content&view=article&id=369%3Abrca1-and-brca2-tumor-suppressor-genes&cid=49%3Aoncology&Itemid=14&lang=el, (Accessed 31/01/2013)
 11. Couch FJ et al., AURKA F31I polymorphism and breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: a consortium of investigators of modifiers of BRCA1/2 study, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007 Jul;16(7):1416-21.
 12. Wikipedia contributors. "Aurora A kinase."Wikipedia, The Free Encyclopedia. Wikipedia, The Free Encyclopedia, 13 Apr. 2012. Web. 31 Jan. 2013.
 13. Martin Amy J. et al., FGFR2 protein expression in breast cancer: nuclear localisation and correlation with patient genotype, *BMC Research Notes* 2011, 4:72
 14. Wikipedia contributors. "Fibroblast growth factor receptor 2." Wikipedia, The Free Encyclopedia. Wikipedia, The Free Encyclopedia, 14 Jan. 2013. Web. 31 Jan. 2013.
 15. Komen Susan G. for the Cure, Table 21: IGF-1 and breast cancer risk, 9/2012 (Accessed 31/01/2013)
 16. Wikipedia contributors. "Insulin-like growth factor 1." Wikipedia, The Free Encyclopedia. Wikipedia, The Free Encyclopedia, 31 Jan. 2013. Web. 31 Jan. 2013.
 17. Weischer M. et al., Increased risk of breast cancer associated with CHEK2*1100delC, *J Clin Oncol.* 2007 Jan 1;25(1):57-63. Epub 2006 Jul 31.
 18. Wikipedia contributors. "CHEK2." Wikipedia, The Free Encyclopedia. Wikipedia, The Free Encyclopedia, 20 Jul. 2012. Web. 31 Jan. 2013.
 19. Azmy Iman AF et al., Role of tumor necrosis factor gene polymorphisms (-308 and -238) in breast cancer susceptibility and severity, *Breast Cancer Res* 2004, 6:R395-R400
 20. Sullivan Nicholas J. (2011). Interleukin-6 in the Breast Tumor Microenvironment, *Breast Cancer – Focusing Tumor Microenvironment, Stem cells and Metastasis*, Prof. Mehmet Gunduz (Ed.), ISBN: 978-953-307-766-6, InTech, Europe, Rijeka, pp 165-182

6.3

Ανίχνευση του Ιού των Αανθρώπινων Θηλωμάτων-HPV σε Φυσιολογικό Στοματικό Βλενογόνο

Δασκαλόπουλος Αργύριος¹, Σκλαβούνου Αλεξάνδρα¹, Δρακούλης Νικόλαος²

¹Τομέας Στοματολογίας, Οδοντιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

²Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ο ιός των ανθρώπινων θηλωμάτων (Human Papilloma Virus – HPV) ανήκει στην κατηγορία των DNA ιών και κατά κύριο λόγο προσβάλλει το επιθήλιο δέρματος και βλεννογόνων προκαλώντας καλοήθειες, δυνητικά κακοήθειες και κακοήθειες νοσολογικές εξεργασίες. Έχουν ταυτοποιηθεί

περισσότεροι από 120 τύποι οι οποίοι, με βάση το ογκογενετικό τους δυναμικό, έχουν ταξινομηθεί σε χαμηλού κινδύνου (Low Risk, LR-HPVs) και υψηλού κινδύνου (High Risk, HR-HPVs), με κύριους εκπροσώπους τα στελέχη 6 και 11, 16 και 18 αντίστοιχα. Η συμμετοχή τους και σε καρκίνους



εξωγεννητικής εντόπισης όπως τα ακανθοκυτταρικά καρκινώματα κεφαλής και τραχήλου (ΑΚΚΤ) αποτελεί θέμα συστηματικής έρευνας τα τελευταία χρόνια.

Τα ποσοστά ανίχνευσης του HPV στο φυσιολογικό στοματικό βλεννογόνο στις διάφορες μελέτες κυμαίνονται από 0-81,1%. Το μεγάλο αυτό εύρος τιμών πιθανότατα οφείλεται στην εκάστοτε χρησιμοποιούμενη μέθοδο ανίχνευσης, στον τρόπο συλλογής και διατήρησης των δειγμάτων καθώς και στις ιδιαιτερότητες του υπό εξέταση πληθυσμού. Σε μετά-ανάλυση 27 μελετών των Miller και συν (2001) διαπιστώθηκε ότι η παρουσία του ιού στο φυσιολογικό βλεννογόνο είναι 2-3 φορές μικρότερη σε σχέση με τις προκαρκινικές βλάβες και 4,7 φορές μικρότερη σε σχέση με το ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα και ανερχόταν στο 10%. Σε συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας των Kreimer και συν (2010) σε δείγμα 4581 περιπτώσεων φυσιολογικού στοματικού βλεννογόνου, 4,5% ήταν θετικά για HPV DNA, με κυρίαρχο στέλεχος το HPV 16 σε ποσοστό 28% των θετικών δειγμάτων.

Η μαλακή υπερώα, η βάση της γλώσσας και η αμυγδαλική χώρα είναι οι πιο συχνές θέσεις ανίχνευσης του ιού και ιδιαίτερα των στελεχών υψηλού κινδύνου σε φυσιολογικό στοματικό βλεννογόνο και φαίνεται ότι αποτελούν «αποθήκη» του ιού για μεγάλα χρονικά διαστήματα.

Το Εργαστήριο Στοματολογίας της Οδοντιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών διερευνά την παρουσία του ιού των Ανθρωπίνων Θηλωμάτων σε φυσιολογικό στοματικό βλεννογόνο, σε δυνητικά κακοήθεις και καρκινικές βλάβες του στοματικού βλεννογόνου. Σε πρόδρομη μελέτη 36 δειγμάτων από φυσιολογικό στοματικό βλεννογόνο βρέθηκε θετικότητα για HPV-DNA σε ποσοστό 16%. Τα αποτελέσματα βρίσκονται εν εξελίξει.

Βιβλιογραφία

1. Dayyani F, Etzel CJ, Liu M et al. Meta-analysis of the impact of human papillomavirus (HPV) on cancer risk and overall survival in head and neck squamous cell carcinomas (HNSCC). *Head Neck Oncol* 2010;2:1-11.
2. Esquenazi D, Filbo IB, Da Costa Carvalbo et al. The frequency of human papillomavirus findings in normal oral mucosa of healthy people by PCR. *Braz J Otorhinolaryngol* 2010;76:78-84.
3. Kreimer AR, Bhatia RK, Messegue AL, González P, Herrero R, Giuliano AR. Oral human papillomavirus in healthy individuals: a systematic review of the literature. *Sex Transm Dis.* 2010;37:386-91.
4. Lambropoulos AF, Dimitrakopoulos J, Frangoulides E et al. Incidence of human papilloma virus 6,11,16,18 and 33 in normal oral mucosa in Greek population. *Eur J Oral Sci* 1997;105:294-97.
5. Miller CS, Johnstone BM. Human papillomavirus as a risk factor for oral squamous cell carcinoma: a meta-analysis, 1982-1997. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001;91:622-35.
6. Rautava J, Syrjänen S. Human papillomavirus infections in the oral mucosa. *JADA* 2011;142:905-14.
7. Syrjänen S, Lodi C, von Bultzingsliowen J et al. Human papillomaviruses in oral carcinomas and oral potentially malignant disorders: a systematic review. *Oral Dis* 2011;17:58-72.
8. Terai M, Hashimoto K, Yoda K et al. High prevalence of human papillomaviruses in the normal oral cavity of adults. *Oral Microbiol Immunol* 1999;14:201-5.
9. Termine N, Panzarella V, Falaschini S et al. HPV in oral squamous cell carcinoma vs head and neck squamous cell carcinoma biopsies: a meta-analysis (1988-2007). *Ann Oncol* 2008;19:1681-90.
10. Termine N, Giovannelli L, Rodolico V et al. Biopsy vs. brushing: Comparison of two sampling methods for the detection of HPV-DNA in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Oral Oncol*;2012: 870-75.



Φαρμακογενετική - Φαρμακογονιδιωματική

7.1

Κατανομή της φαινοτυπικής ενεργότητας των μεταβολικών ενζύμων CYP2A6 και NAT2 σε υγιείς εθελοντές Ελληνικής καταγωγής ηλικίας 20-40 ετών

Κατσούλα Σπυριδούλα, Λειβαδάρου Ελευθερία

Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Οι διατομικές διαφορές στη δράση ή στην τοξικότητα ενός φαρμάκου οφείλονται μεταξύ άλλων στο διαφορετικό βιοχημικό υπόβαθρο του κάθε ασθενούς, το οποίο προκύπτει από γενετικούς πολυμορφισμούς που επηρεάζουν τα ένζυμα που συμμετέχουν στα διάφορα στάδια βιομετατροπής των φαρμάκων. Σκοπός της εργασίας αυτής ήταν η μελέτη του φαινοτύπου δείγματος ελληνικού πληθυσμού όσον αφορά δύο ένζυμα του ηπατικού μεταβολισμού, το CYP2A6 και τη NAT2, καθώς και η διερεύνηση του πιθανού ρόλου ενδογενών και εξωγενών παραγόντων στην τροποποίηση της ενεργότητάς τους.

Στη μελέτη αυτή συμμετείχαν 109 υγιείς εθελοντές ελληνικής καταγωγής (45 Γυναίκες, 64 Άνδρες, 20-40 ετών), των οποίων ο φαινότυπος προσδιορίστηκε με τη μη επεμβατική μέθοδο της καφεΐνης, με τη χρήση της Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης (HPLC).

Όσον αφορά το CYP2A6, το ποσοστό των αργών μεταβολιστών (PM) ήταν 9,17% του συνόλου του δείγματος, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό γρήγορων μεταβολιστών (EM) ήταν 90,83%. Από τις επιμέρους συγκρίσεις διαπιστώθηκε ότι το κάπνισμα επάγει την ενεργότητα του CYP2A6, αφού οι PM στους καπνιστές ήταν πάντα λιγότεροι από τους PM στους μη καπνιστές. Το φύλο δεν φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην τροποποίηση της ενζυμικής ενεργότητας του CYP2A6, αφού δεν παρατηρήθηκε διαφοροποίηση στα ποσοστά PM και EM μεταξύ ανδρών και γυναικών στο δείγμα πληθυσμού που μελετήθηκε.

Στην παρούσα μελέτη επιβεβαιώθηκε η κατανομή της φαινοτυπικής ενεργότητας της NAT2 στον Ελληνικό πληθυσμό. Όσον αφορά τη NAT2, 41,28% του δείγματος αντιστοιχεί

σε αργούς ακετυλιωτές (S.A.) και 58,72% σε γρήγορους ακετυλιωτές (F.A.).

Βιβλιογραφία

1. Drakoulis N. – Pharmacogenetics-Pharmacogenomics. The way towards individualization of therapy. Pharmakeftiki 17, 2, 30-37, 2004.
2. Grant DM., Tang BK, Kalow W. – Variability in caffeine metabolism. Clin Pharmacol Ther 33, 5, 591-602, 1983.
3. Kalow W., Tang BK. – The use of caffeine for enzyme assays: A critical appraisal. Clin Pharmacol Ther 53, 5, 503-512, 1993.
4. Kalow W., Tang BK. – Use of caffeine metabolic ratios to explore CYP1A2 and XO activities. Clin Pharmacol Ther 50, 5, 508-519, 1991.
5. Bendriss El-khalil, Markoglou N., Wainer IW. – Liquid chromatographic method for the simultaneous determination of caffeine and 14 caffeine metabolites in urine. J Chromatogr B 746, 331-338, 2000.
6. Macheras P., Reppas C. – Biofarmakeftiki, 259-260, 1997.
7. Harvey R.A, Champe P.C, – Pharmacology, 14-15.
8. Chun Xu, Shari G., Edward M., Tyndale R.F. – CYP2A6 genetic variation and potential consequences. Adv Drug Del Rev 54, 1245-1256, 2002.
9. Nyeki A., Budin T., Biollaz J., Decosterd L.A. – NAT2 and CYP1A2 phenotyping with caffeine: head-to-head comparison of AFMU vs. AAMU in the urine metabolite ratios. Br J Clin Pharmacol 55, 62-67, 2003.
10. Jetter Al., Illauer M., Borlak J., Cascorbi I., Hermann R., Erb K., Wolf H., Sorgel F., Fuhr U., Smith G. – Phenotyping of NAT2 by caffeine from uncontrolled dietary exposure. Eur J Clin Pharmacol 60: 17-21, 2004.
11. Cascorbi I., Drakoulis N., Brockmoller J., Maurer A., Sperling K., Roots I. - Arylamine



- NAT2 mutations and their allelic linkage in unrelated Caucasian individuals. *Am J Hum Genet* 57: 581-92, 1995.
12. Tang BK., Kadar D., Qian L., Iriah J., Yip J., Kalow W. – Caffeine as a metabolic probe: Validation of its use for acetylator phenotyping. *Clin Pharmacol Ther* 49, 6, 648-657, 1991.
 13. Drakoulis N., Malliara E., Balaskonis K., Haliasos E., Bauer R., Scarleas S., Kyprianou – Genetic polymorphism and chemical carcinogenesis assessment of the enzymes NAT2, CYP2A6 and CYP1A2 metabolizing activity among Greek lung cancer patients and controls.
 14. Lorient MA., Rebuissou S., Oscarson M., Cenee S., Miyamoto M., Ariyoshi N., Kamataki T., Hemon D., Beaune P., Stucker I. – Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2A6 in a case-control study on lung cancer in a French population. *Pharmacogenetics* 11, 39-44, 2001.
 15. Oscarson Mikael – Genetic polymorphisms in the cytochrome P450 2A6 gene: implications for interindividual differences in nicotine metabolism. *Drug Met Disp* 29, 91-95, 2001.
 16. Raunio H., Rautio A., Harriet G., Olavi P. – Polymorphisms of CYP2A6 and its practical consequences. *Br J Clin Pharmacol* 52, 357-363, 2001.
 17. Asproдини EK., Zifa E., Papageorgiou I., Benakis A. – Determination of N-a acetylation phenotyping in a Greek population using caffeine as a metabolic probe. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 23(4), 501-506, 1998.
 18. Campbell ME., Spielberg SP., Kalow W. - A urinary metabolite ratio that reflects systemic caffeine clearance. *Clin Pharmacol Ther* 42, 2, 157-165, 1987.
 19. Carrillo J., Benitez J. - CYP1A2 activity, gender and smoking, as variables influencing the toxicity of caffeine. *Br J Clin Pharmacol* 41: 605-608, 1996.
 20. Kalow W., Tang BK. – Caffeine as a metabolic probe: Exploration of the enzyme-inducing effect of cigarette smoking. *Clin Pharmacol Ther* 49, 1, 44-49, 1991.

7.2

Γενετικός πολυμορφισμός των ενζύμων NAT2, CYP2A6, CYP1A2 και καρκίνος του πνεύμονα: προσδιορισμός της μεταβολικής δραστηριότητας των ενζύμων σε φαινοτυπική μελέτη σύγκρισης με ομάδα ελέγχου σε Ελληνικό πληθυσμό.

Μαλλιάρη Ε¹, Μπαλασκώνης Κ¹, Bauer S², Κυπριανού Κωνσταντίνος³, και Δρακούλης Ν¹

¹Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

²Institute of Clinical Pharmacology and Toxicology, Charité – Universitätsmedizin Berlin

³Ογκολογικό Τμήμα, Ευρωκλινική Αθηνών.

Οι περισσότεροι άνθρωποι εκτίθενται συνεχώς σε χημικά καρκινογόνα κάθε μέρα, αλλά μόνο ένα μικρό ποσοστό αυτών τελικά αναπτύσσει καρκίνο. Διατομικές διαφορές στη βιομετατροπή των προ-καρκινογόνων μπορεί να επηρεάσουν την πιθανότητα ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα σε άτομα που εκτίθενται σε τέτοιες ουσίες. Αυτές οι αντιδράσεις ενεργοποίησης και απενεργοποίησης καταλύονται κυρίως από πολυμορφικά ένζυμα της φάσης I και της φάσης II. Σκοπός αυτής της μελέτης ήταν να διερευνήσει τη σχέση ανάμεσα στην καταλυτική δραστηριότητα των μεταβολικών ενζύμων: NAT2, CYP2A6, CYP1A2 και στην πιθανότητα ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα στον ελληνικό πληθυσμό.

Διερευνήθηκε ο φαινότυπος 99 ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα (17 γυναίκες και 82 άνδρες, ηλικίας 45–85 ετών, μέση ηλικία 65) και 390 Ελλήνων (219 γυναίκες και 171 άνδρες, ηλικίας 19–83 ετών, μέση ηλικία 50) χωρίς νεοπλασματική νόσο, με τη μέθοδο της καφεΐνης.

Η μελέτη του φαινοτύπου της NAT2 αποκάλυψε μια ξεκάθαρη δικόρυφη κατανομή με σημαντικά χαμηλότερη συχνότητα αργών ακετυλιωτών στην ομάδα των Ελλήνων ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα (26%) σε σχέση με την ομάδα αναφοράς (47%). Αυτή η παρατήρηση (OR=0,41 p<0,001) υποδεικνύει μια θετική επίδραση της υψηλής δραστηριότητας της NAT2 στην πιθανότητα ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα. Μόνο το



4.87% της ομάδας ελέγχου είχε χαμηλή δραστηριότητα του ενζύμου CYP2A6. Η συχνότητα των γρήγορων μεταβολιστών στον πληθυσμό των ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα ήταν 4.04%, υποδεικνύοντας μια μη σημαντική συσχέτιση ($OR=0,84$ $p=0,85$) ανάμεσα στη δραστηριότητα του CYP2A6 και τον καρκίνο του πνεύμονα. Τέλος, από τη διερεύνηση του φαινοτύπου για το CYP1A2 δεν προέκυψε ξεκάθαρη δικόρυφη κατανομή

Βιβλιογραφία

1. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. Chemicals and industrial processes associated with cancer in humans. IARC Monographs vol. 1-20. Report of an ad hoc working group. Lyon, International Agency for Research on Cancer, 1979.
2. Roots I, Drakoulis N, Brockmoller J.
3. Turesky RJ. The role of Genetic Polymorphisms in Metabolism of Carcinogenic Heterocyclic Aromatic Amines. *Current Drug Metabolism*, 2004; 169-180.
4. Grant DM, Tang BK, Kalow W. A simple test for acetylator phenotype using caffeine. *Br. J. Clin. Pharmacol*; 1984; 459-464.
5. Drakoulis N, Malliara E, Balaskonis K, Haliassos E, Bauer S, Skarleas C, Kyprianou K. Genetic Polymorphism and Chemical Carcinogenesis: assessment of the enzymes' NAT2, CYP2A6 and CYP1A2 Metabolizing Activity among Greek Lung Cancer patients and controls. *Basic Clin Pharm Toxicol*, 2005; 115.

7.3

Ο Γενετικός Πολυμορφισμός του Ισοενζύμου CYP2E1 στον Ελληνικό Πληθυσμό και η Σχέση του με την Αποτελεσματικότητα της Θεραπείας με Ακεταμινοφαίνη

Καράτζιου-Τζαντίλα Χριστίνα, Δρακούλης Νικόλαος

Σκοπός. Το ισοένζυμο CYP2E1 του κυτοχρώματος P-450 συμμετέχει στη βιομετατροπή της αιθανόλης, της ακετόνης, πολλών μορίων μικρού μοριακού βάρους και των εισπνεόμενων αναισθητικών. Το CYP2E1 συμμετέχει, επίσης, στη χημική ενεργοποίηση πολλών καρκινογόνων, προκαρκινογόνων και τοξικών ενώσεων. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η ανάλυση του γενετικού πολυμορφισμού του ισοενζύμου CYP2E1 στον Ελληνικό πληθυσμό και η διερεύνηση της σχέσης του με την αποτελεσματικότητα της θεραπείας με ακεταμινοφαίνη.

Μέθοδοι. Η μελέτη ήταν μη παρεμβατική και πολυκεντρική. Αναλύθηκε ο γονότυπος 147 Ελλήνων εθελοντών. Σε 62 από αυτούς χορηγήθηκαν 1000mg ακεταμινοφαίνης ενδομυϊκώς. Η γονοτύπηση έγινε με ανάλυση PCR με χρησιμοποίηση ενζύμων περιορισμού TaqI και RsaI. Η ανάλυση των 62 δειγμάτων ακεταμινοφαίνης έγινε με HPLC και φασματοφωτομετρική ανίχνευση της ουσίας.

Αποτελέσματα-Συμπεράσματα. Στην ανάλυση γονοτύπου το αλληλόμορφο αρχέγονο τύπου *1Α εμφανίζεται σε ποσοστό 85,4% ενώ τα μεταλλαγμένα αλληλόμορφα

*1B και *5 εμφανίζονται σε ποσοστά 11,6% και 3,0% αντίστοιχα. Ο ομόζυγος μεταλλαγμένος τύπος *5/*5 έχει μηδενικό ποσοστό στον πληθυσμό. Από την HPLC ανάλυση για τον εντοπισμό της ακεταμινοφαίνης στο πλάσμα των 62 εθελοντών δεν παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση των συγκεντρώσεων του φαρμάκου μεταξύ των εθελοντών με ή χωρίς τα μεταλλαγμένα ισοένζυμα.

Βιβλιογραφία

1. Gonzalez FJ, Idle JR, (1994), Pharmacogenetic Phenotyping and Genotyping, Present Status and Future Potential, *Clin Pharmacok*, 26:59-70
2. Tucker GT, (1994), Clinical Implications of Genetic Polymorphism in Drug Metabolism, *J Pharm Pharmacol* 46:417-424
3. Drakoulis N, (2004), Pharmacogenetics-Pharmacogenomics, The way to personalized therapy, *Farmakeftiki* 17,II, 30-37
4. Nelson DR, Koymans L, Kamataki T, Stegeman JJ, (1996), P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics* 6, 1-42
5. Shimada T, Yamazaki H, Mimura M,



- Wakamiya N, Ueng YF, Guengerich FP, Inui Y, (1996), Characterization of microsomal cytochrome P450 enzymes involved in the oxidation of xenobiotic chemicals in human fetal liver and adult lungs. *Drug Metab Dispos.* 24, 515-522.
6. Gardiner S J, Begg EJ, (2006), Pharmacogenetics, Drug- Metabolizing Enzymes and Clinical Practice, *Pharmacol Rev*, 58:521-590
 7. Rendic S, (2002), Summary of information on human CYP enzymes: human P450 metabolism data, *Drug Metab Rev* 34, 83-448.
 8. Wrighton SA, Stevens JC, (1992), The Human Hepatic cytochromes P-450 involved in drug metabolism *Crit Rev Toxicol* 22:1-21.
 9. Gonzalez FJ, (1988) The molecular biology of cytochrome P450s, *Pharmacol Rev* 40,243-288
 10. Guengerich FP, (1994) Catalytic selectivity of human cytochrome P450 enzymes: relevance to drug metabolism and toxicity, *Toxicol Lett* 70, 133-138
 11. Guengerich FP, (2005), Cytochrome P450. Structure, Mechanism, and Biochemistry. In Paul R.Ortiz de Montellano (ed.), pp. 377-498 (Kluwer Academic/PlenumPublishers, London)
 12. Paolini M, Biagi GL, Cantelli-Forti G, (1999), The many consequences of chemicaland genetic-based modulation of drug metabolizing enzyme activities. *Life Sci.*65, L75-L79
 13. Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Inui Y, Guengerich FP, (1994), Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *J Pharmacol Exp Ther* 270, 414-423
 14. Chen GF, Ronis MJ, Ingelman-Sundberg M, Badger TM, (1999), Hormonal regulation of microsomal cytochrome P4502E1 and P450 reductase in rat liver and kidney. *Xenobiotica* 29, 437-451.
 15. Lieber CS, (1997), Cytochrome P-4502E1: its physiological and pathological role, *Physiol Rev* 77, 517-544.
 16. Kachula SO, Pentiuk OO, (2004), Effect of starvation and acetone on the enzyme systems of biotransformation and toxicity of xenobiotics--CYP2E1 substrates in rats. *Ukr Biokhim Zh.* 76, 114-122
 17. Vieira I, Sonnier M, Cresteil T, (1996), Developmental expression of CYP2E1 in the human liver. Hypermethylation control of gene expression during the neonatal period, *Eur J Biochem* 238, 476-483.
 18. Njoku D, Laster MJ, Gong DH, Eger EI 2nd, Reed GF, Martin JL, (1997), Biotransformation of halothane, enflurane, isoflurane, and desflurane to trifluoroacetylated liver proteins: association between protein acylation and hepatic injury, *Anesth Analg* 84, 173-178
 19. Asai H, Imaoka S, Kuroki T, Monna T, Funae Y, (1996), Microsomal ethanol oxidizing system activity by human hepatic cytochrome P450s, *J Pharmacol Exp Ther* 277, 1004-1009.
 20. Wong FW, Chan WY, Lee SS, (1998), Resistance to carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice which lack CYP2E1 expression, *Toxicol Appl Pharmacol* 153, 109-118

7.4

Οι Πολυμορφισμοί του Γονιδίου της Ν-Ακετυλοτρανσφεράσης 2 και η Συχνότητα με την οποία Απαντώνται στον Ελληνικό Πληθυσμό

Μάσσια Δέσποινα, Δρακούλης Νικόλαος

Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Οι Ν-ακετυλοτρανσφεράσες στους ανθρώπους είναι μια κατηγορία ενζύμων που έχουν ως κύριο ρόλο την ακετυλίωση ουσιών. Οι Ν-ακετυλοτρανσφεράσες παίζουν καθοριστικό ρόλο στη φαρμακογενετική. Διάφορες έρευνες έχουν αποκαλύψει την ύπαρξη δύο αλληλόμορφων, των NAT1 και NAT2. Ισχυρές ενδείξεις για το φαινόμενο του πολυμορφισμού στις NAT υπήρχαν εξαιτίας

των συχνά παρατηρούμενων διαφορών στην ικανότητα ακετυλίωσης στους ανθρώπους του φαρμάκου ισονιαζίδη. Ο πολυμορφισμός των NAT στον άνθρωπο έχει οδηγήσει στην ύπαρξη δύο διαφορετικών φαινότυπων, των αργών και γρήγορων ακετυλιωτών. Ο σκοπός της παρούσης εργασίας είναι να μελετήσει τη συχνότητα εμφάνισης των μεταλλάξεων NAT*25A, NAT2*6A και NAT2*7A/B στον



ελληνικό πληθυσμό.

Πραγματοποιήθηκε γονοτυπική ανάλυση σε δείγματα ολικού αίματος, που άνηκαν σε 56 υγιή άτομα ελληνικής καταγωγής με τη μέθοδο PCR. 28 από αυτά ήταν γυναίκες και 28 ήταν άνδρες.

Η παρατηρούμενη συχνότητα των μεταλλαγμένων αλληλόμορφων NAT2*5A στον γενικό πληθυσμό ήταν 52%, στους άνδρες 64% και στις γυναίκες 57%. Τα αντίστοιχα παρατηρούμενα αποτελέσματα για το NAT2*6A ήταν 45% για το γενικό πληθυσμό, στους άνδρες 43% και στις γυναίκες 48%. Τέλος, για το NAT2*7A/B τα ποσοστά ήταν 20% στο γενικό πληθυσμό, 25% στους άνδρες και 14% στις γυναίκες.

Βιβλιογραφία

1. Beland Markus. Molekulargenetische Untersuchungen am Genlocus der menschlichen Arylamin-N-Acetyltransferase zur Bestimmung des Genotyps. PhD Thesis, Berlin 1994
2. Lin HJ, Han CY, Lin BK. Ethnic distribution of slow acetylation mutations in the polymorphic N-acetyltransferase gene. Pharmacogenetics 1994;4(3):125-34.
3. Hein DW, Doll MA, Fretland AJ, Leff MA, Webb SA, Xiao GH, Devanaboyina US, Feng Y. Molecular Genetics and Epidemiology of the NAT1 and NAT2 acetylation polymorphisms. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2000; 9(1):29-42.
4. Koutselini Antonios. Toxicology. Book A'. Parisianos Scientific Publications, Athens 2000.
5. Karlson Peter, Doenecke Detlef, Koolman Jan. Biochemistry, Litsas Medical Publications, Athens, 2000
6. Sim Edith, Walters Kylie, Boukouvala Sotiria. Arylamine N-acetyltransferase, From structure to function, Drug metabolism reviews 2008; 40(3):479-510.
7. Tyrone Genade, What is the Role of N-Acetyltransferase in Xenobiotic-Metabolism? In: Argoti, Dayana, "Liquid chromatography-mass spectrometry for detection and characterization of DNA biomarkers and reactive metabolites" (2008). Chemistry Dissertations. Paper 10. <http://hdl.handle.net/2047/d10016740> (Accessed 17/2/2013)
8. Yuan J.-M., Chan K. K., Coetzee G. A., Castela J.E., Watson M. A., Bell D. A., Wang R., and Yu M. C.. Genetic determinants in the metabolism of bladder carcinogens in relation to risk of bladder cancer. Carcinogenesis. 2008; 29(7):1386-93.
9. Huang, Chi-Chou; Chien, Wen-Pin; Wong, Ruey-Hong; Cheng, Ya-Wen; Chen, Meng-Cheng; Chou, Ming-Chih; Lee, Huei NAT2 Fast Acetylator Genotype is Associated with an Increased Risk of Colorectal Cancer in Taiwan. Dis Colon Rectum 2007; 50: 1-9
10. Hein, D. W., Doll, M. A., Rustan, T. D., Gray, K., Feng, Y., Ferguson, R. J., and Grant, D. M. (1993) Metabolic activation and deactivation of arylamine carcinogens by recombinant human NAT1 and polymorphic NAT2 acetyltransferases. Carcinogenesis 14, 1633-1638
11. Grant, D.M., Molecular genetics of N-acetyltransferase. Pharmacogenetics, 1993, 3: 45-50

7.5

Μελέτη του πολυμορφισμού C3435T του γονιδίου της πολυφαρμακευτικής αντίστασης 1 (MDR1 gene) στον Ελληνικό πληθυσμό.

Χατζηγεωργίου Νικόδημος, Δρακούλης Νικόλαος.

Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Το ανθρώπινο γονίδιο της πολυφαρμακευτικής αντίστασης 1 (multidrug resistance gene 1, MDR1) κωδικοποιεί μια 170kd μεμβρανική πρωτεΐνη την Ρ-γλυκοπρωτεΐνη (**P-glycoprotein**, P-grp) η οποία δρα ως ATP-εξαρτώμενος εξαγωγέας ξενοβιοτικών που απομακρύνει τα υποστρώματά του εκτός του κυττάρου. Η Ρ-γλυκοπρωτεΐνη εντοπίζεται όχι

μόνο στα καρκινικά κύτταρα όπου συνεισφέρει στην πολυφαρμακευτική αντίσταση έναντι των αντικαρκινικών φαρμάκων, αλλά και σε φυσιολογικούς ιστούς όπως το έντερο, το ήπαρ και τους νεφρούς, στα επιθηλιακά κύτταρα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, στον πλακούντα, τους όρχεις και τα κύτταρα του



περιφερικού αίματος. Πιστεύεται ότι η έκφραση της P- γλυκοπρωτεΐνης σε αυτούς τους ιστούς αποτελεί έναν προστατευτικό μηχανισμό έναντι των ξενοβιοτικών. Επιπλέον, η P-γλυκοπρωτεΐνη επηρεάζει την απορρόφηση και την κάθαρση φαρμάκων και είναι υπεύθυνη για πλήθος φαρμακευτικών αλληλεπιδράσεων.

Ο κυριότερος πολυμορφισμός στη βιβλιογραφία ο οποίος σχετίζεται με την έκφραση και λειτουργία της P-γλυκοπρωτεΐνης είναι ο C3435T πολυμορφισμός στο εξόνιο 26. Εξαιτίας της διεθνικής μεταβλητότητας που παρουσιάζει και προκειμένου να καθοριστεί ο γονότυπος και η συχνότητα των αλληλόμορφων του γονιδίου της πολυφαρμακευτικής αντίστασης στον Ελληνικό πληθυσμό, μελετήσαμε 130 υγιείς εθελοντές χρησιμοποιώντας αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο (Real Time PCR) και ανάλυση σημείου τήξεως με φθορισμό (Fluorescent melting point analysis) και προσπαθήσαμε να ανιχνεύσουμε εάν υπάρχει συσχέτιση του πολυμορφισμού C3435T με το φύλο, την ηλικία, το κάπνισμα ή την ομάδα αίματος. Επίσης προσπαθήσαμε να ανιχνεύσουμε σε τμήμα του πληθυσμού μας (n=41) εάν υπάρχει συσχέτιση του πολυμορφισμού C3435T με την υπερχοληστεριναιμία.

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας είναι ότι οι συχνότητες των γονότυπων και των αλληλόμορφων για τον C3435T πολυμορφισμό στον Ελληνικό Πληθυσμό (n=130) βρίσκονται σε συνάφεια με τις συχνότητες γονοτύπων και αλληλόμορφων όπως αυτοί αναφέρονται στη βιβλιογραφία και αφορούν τον Καυκάσιο Πληθυσμό της Γερμανίας και του Ηνωμένου Βασιλείου ενώ δεν βρέθηκε καμία στατιστική σημαντική συσχέτιση με το φύλο, την ηλικία, το κάπνισμα και την ομάδα αίματος.

Επιπλέον δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της ολικής χοληστερόλης και της LDL με τον πολυμορφισμό C3435T ή το αλληλόμορφο T στη θέση 3435 του ανθρώπινου γονιδίου της πολυφαρμακευτικής αντίστασης (MDR1 gene) στο δείγμα του Ελληνικού Πληθυσμού της μελέτης μας αντίθετα με τα αποτελέσματα πρόσφατης μελέτης σε Ευρωπαίους υπερχοληστεριναιμικούς κατοίκους της Βραζιλίας. Περαιτέρω μελέτες μένει να γίνουν τόσο σε επίπεδο απορρόφησης και απέκκρισης

όσο και σε επίπεδο αλληλεπιδράσεων φαρμάκων σε σχέση με τον πολυμορφισμό C3435T του γονιδίου MDR1 στον Ελληνικό πληθυσμό.

Βιβλιογραφία

- 1) Juliano RL and Ling V: A surface glycoprotein modulating drug permeability in chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim. Biophys. Acta*, 1976 455: 152-162.
- 2) Thiebaut F, Tsuoro T, Hamada H, Gottesman M, Pastan I, Willingham MC: Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1987;84:7735-7738.
- 3) Cordon-Cardo C, O'Brien JP, Casals D, Rittman-Grauer L, Biedler JL, Melamed MR, Bertino JR: Multidrug-resistance gene (P-glycoprotein) is expressed by endothelial cells at blood-brain barrier sites. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 1989; 86(2):695-698.
- 4) Klimecki WT, Futscher BW, Grogan TM, Dalton WS: P-glycoprotein expression and function in circulating blood cells from normal volunteers. *Blood*. 1994; 83(9):2451-8.
- 5) Gottesman MM, Pastan I: Biochemistry of multidrug resistance mediated by the multidrug transporter. *Annu Rev Biochem*. 1993;62:385-427. Review.
- 6) Higgins CF, Gottesman MM: Is the multidrug transporter a flippase? *Trends Biochem Sci*. 1992 Jan;17(1):18-21. Review
- 7) Lown KS, Mayo RR, Leichtman AB, Hsiao HL, Turgeon DK, Schmiedlin-Ren P, Brown MB, Guo W, Rossi SJ, Benet LZ, Watkins PB: Role of intestinal P-glycoprotein (mdr1) in interpatient variation in the oral bioavailability of cyclosporine. *Clin Pharmacol Ther*. 1997;62(3):248-60.
- 8) Greiner B, Eichelbaum M, Fritz P, Kreichgauer HP, von Richter O, Zundler J, Kroemer HK: The role of intestinal P-glycoprotein in the interaction of digoxin and rifampin. *J Clin Invest*. 1999;104(2):147-53.
- 9) Westphal K, Weinbrenner A, Zschiesche M, Franke G, Knoke M, Oertel R, Fritz P, von Richter O, Warzok R, Hachenberg T, Kauffmann HM, Schrenk D, Terhaag B, Kroemer HK, Siegmund W: Induction of P-glycoprotein by rifampin increases intestinal secretion of talinolol in human beings: a new type of drug/drug interaction. *Clin Pharmacol Ther*. 2000 Oct;68(4):345-55.
- 10) Fromm MF, Kim RB, Stein CM, Wilkinson GR, Roden DM: Inhibition of P-glycoprotein-mediated drug transport: A unifying mechanism to explain the interaction between



- digoxin and quinidine. *Circulation*. 1999;99(4):552-7.
- 11) Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmöller J, John A, Cascorbi I, Gerloff T, Roots I, Eichelbaum M, Brinkmann U: Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(7):3473-8.
- 12) Ueda K, Okamura N, Hirai M, Tanigawara Y, Saeki T, Kioka N, Komano T, Hori R: Human P-glycoprotein transports cortisol, aldosterone, and dexamethasone, but not progesterone. *J Biol Chem*. 1992 Dec 5;267(34):24248-52.
- 13) Schinkel AH: The physiological function of drug-transporting P-glycoproteins. *Semin Cancer Biol*. 1997 Jun;8(3):161-70. Review.
- 14) Johnstone RW, Ruefli AA, Smyth MJ: Multiple physiological functions for multidrug transporter P-glycoprotein? *Trends Biochem Sci*. 2000 Jan;25(1):1-6. Review.
- 15) Panwala CM, Jones JC, Viney JL: A novel model of inflammatory bowel disease: mice deficient for the multiple drug resistance gene, *mdr1a*, spontaneously develop colitis. *J Immunol*. 1998 Nov 15;161(10):5733-44.
- 16) Kim RB, Fromm MF, Wandel C, Leake B, Wood AJ, Roden DM, Wilkinson GR: The drug transporter P-glycoprotein limits oral absorption and brain entry of HIV-1 protease inhibitors. *J Clin Invest*. 1998 Jan 15;101(2):289-94.
- 17) Lee CG, Gottesman MM, Cardarelli CO, Ramachandra M, Jeang KT, Ambudkar SV, Pastan I, Dey S: HIV-1 protease inhibitors are substrates for the MDR1 multidrug transporter. *Biochemistry*. 1998 Mar 17;37(11):3594-601.
- 18) Alsenz J, Steffen H, Alex R: Active apical secretory efflux of the HIV protease inhibitors saquinavir and zidovudine in Caco-2 cell monolayers. *Pharm Res*. 1998 Mar;15(3):423-8. Erratum in: *Pharm Res* 1998 Jun;15(6):958.
- 19) Hitzl M, Drescher S, van der Kuip H, Schäffeler E, Fischer J, Schwab M, Eichelbaum M, Fromm MF: The C3435T mutation in the human MDR1 gene is associated with altered efflux of the P-glycoprotein substrate rhodamine 123 from CD56+ natural killer cells. *Pharmacogenetics*. 2001 Jun;11(4):293-8.
- 20) Polli JW, Jarrett JL, Studenberg SD, Humphreys JE, Dennis SW, Brouwer KR, Woolley JL: Role of P-glycoprotein on the CNS disposition of amprenavir (141W94), an HIV protease inhibitor. *Pharm Res*. 1999 Aug;16(8):1206-12.

7.6

Επιπολασμός των Μεταλλάξεων της NAT2 σε Έλληνες Ασθενείς που πάσχουν από νόσο του Πάρκινσον

Σταθέλος Ευστάθιος, Δρακούλης Νικόλαος.

Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η νόσος του Πάρκινσον είναι μία κοινή, προοδευτική νευροεκφυλιστική πάθηση του κεντρικού νευρικού συστήματος. Ο επιπολασμός της νόσου στο γενικό πληθυσμό υπολογίζεται στο 0,1-0,25%. Ο επιπολασμός παρουσιάζει και σημαντικές διαφυλετικές διαφορές, γεγονός που ενισχύει και την υπόθεση γενετικής αιτιολογίας. Η θεωρία που έχει επικρατήσει προτείνει ότι η αιτιολογία της μπορεί οφείλεται σε ένα συνδυασμό γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης πραγματοποιήθηκε μία ανάλυση του φαινοτύπου του μεταβολικού προφίλ, όπως αυτό καθορίζεται από την έκφραση του ενζύμου NAT2, σε πληθυσμό Ελλήνων.

Μέθοδοι: Έγινε ανάλυση του γονότυπου σε 124 ασθενείς που είχαν διαγνωσθεί με νόσο του Πάρκινσον. Παράλληλα με τους ασθενείς έγινε ανάλυση του γονότυπου που εκφράζει τη μεταβολική δραστηριότητα της NAT-2 και σε 194 μάρτυρες Ελληνικής ιθαγένειας. Ολόκληρο το εξόνιο του NAT-2, μεγέθους 1211bp πολλαπλασιάστηκε σε μία αρχική PCR. Το προϊόν της αντίδρασης επεξεργάστηκε με περιοριστικές ενδονουκλεάσες, και παρήγαγε DNA τεμαχισμένο σε μήκος χαρακτηριστικό για τους υπό μελέτη πολυμορφισμούς.

Αποτελέσματα: Βάσει των μεταλλάξεων που μελετήθηκαν, μπορούσαν να γίνουν 11 διαφορετικοί συνδυασμοί στο γονότυπο από



τους οποίους 4 αντιστοιχούν σε φαινότυπο γρήγορου και 7 σε φαινότυπο αργού ακετυλιωτή. Ο γονότυπος του αρχέγονου γονιδίου, εμφανιζόταν σε ποσοστό 9.7% (n=10) στην ομάδα των ασθενών έναντι 5.3% (n=10) στην ομάδα των μαρτύρων. Οι γρήγοροι φαινότυποι με μοναδικές παραλλαγές στο γονίδιο τις 481CT και 590GA εμφανίζονταν αντίστοιχα σε ποσοστά 25.0% (n=25) και 15.3% (n=15) στην ομάδα των ασθενών έναντι 23.0% (n=45) και 8.6% (n=17) στην ομάδα των μαρτύρων. Ο αργός φαινότυπος 590AA ανιχνεύθηκε σε ποσοστό 9.5% (n=18) και 5.6% (n=6) στους πληθυσμούς των μαρτύρων και των ασθενών αντίστοιχα και ο 590AA, 857GA ανιχνεύθηκε σε ποσοστό 4.1% (n=8) στην ομάδα των μαρτύρων και 3.2% (n=3) στην ομάδα των ασθενών.

Συμπεράσματα: Από την εμπειρική ανάλυση των αποτελεσμάτων δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή αποτελέσματα. Οι τέσσερις γονότυποι που μελετήθηκαν που αντιστοιχούν σε φαινότυπο γρήγορου ακετυλιωτή συμπεριλαμβανομένου και του αρχέγονου παρουσιάζουν την ίδια κατανομή και στους δύο πληθυσμούς και οι διαφορές στα ποσοστά ανίχνευσης των γονότυπων αυτών μεταξύ των δύο πληθυσμών δεν φαίνονται να είναι σημαντικές. Ο πολυμορφισμός 590GA ανιχνεύθηκε σε ποσοστό 15.3% μεταξύ των ασθενών έναντι 8.6% μεταξύ των μαρτύρων με OR 1.84 (CI 0.99-3.72). Στατιστικά σημαντικές διαφορές δεν παρατηρήθηκαν για κανένα από τα υπόλοιπα αλληλόμορφα που κωδικοποιούν για γρήγορο φαινότυπο. Συνολικά, στη μελέτη δεν επιβεβαιώνεται στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του αργού φαινότυπου της NAT2 και της νόσου του Πάρκινσον στον Ελληνικό πληθυσμό. Η ιδιομορφία δε που παρατηρήθηκε στις παραλλαγές στη θέση 857 του γονιδίου ίσως υποδεικνύει κάποια συσχέτιση με τη νόσο.

Βιβλιογραφία

1. Warner TT, Schapira AH: Genetic and environmental factors in the cause of Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2003, 53(Suppl 3):S16-S23.
2. Nagatsu T: Amine-related neurotoxins in Parkinson's disease: past, present, and future. *Neurotoxicol Teratol* 2002, 24:565-569.
3. Butcher NJ, Boukouvala S, Sim E, Minchin RF: Pharmacogenetics of the arylamine N-acetyltransferases. *Pharmacogenomics* 2002, 2:30-42.
4. Grant DM, Goodfellow GH, Sugamori K, Durette K: Pharmacogenetics of the human arylamine N-acetyltransferases. *Pharmacology* 2000, 61(3):204-211.
5. Cascorbi I, Drakoulis N, Brockmoller J, Maurer A, Sperling K, Roots I: Arylamine N-acetyltransferase (NAT2) mutations and their allelic linkage in unrelated Caucasian individuals: correlation with phenotypic activity. *Am J Hum Genet* 1995, 57:581-592.
6. Hein DW, Doll MA, Fretland AJ, Leff MA, Webb SJ, Xiao GH, Devanaboyina US, Nangju NA, Feng Y: Molecular genetics and epidemiology of the NAT1 and NAT2 acetylation polymorphisms. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000, 9:29-42.
7. Bandmann O, Vaughan JR, Holmans P, Marsden CD, Wood NW: Detailed genotyping demonstrates association between the slow acetylator genotype for N-acetyltransferase 2 (NAT2) and familial Parkinson's disease. *Mov Disord* 2000, 15:30-35.
8. Harhangi BS, Oostra BA, Heutink P, van Duijn CM, Hofman A, Breteler MM: N-acetyltransferase-2 polymorphism in Parkinson's disease: the Rotterdam study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999, 67:518-520.
9. Chan DK, Lam MK, Wong R, Hung WT, Wilcken DE: Strong association between N-acetyltransferase 2 genotype and PD in Hong Kong Chinese. *Neurology* 2003, 60:1002-1005.
10. Tan EK, Khajavi M, Thornby JI, Nagamitsu S, Jankovic J, Ashizawa T: Variability and validity of polymorphism association studies in Parkinson's disease. *Neurology* 2000, 55(4):533-538.