

Κλινική Έρευνα

Γενετική Μελέτη του Ελληνικού Υπερτασικού Πληθυσμού

ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΚΟΥΡΕΜΕΝΟΣ¹, ΙΩΑΝΝΑ Β. ΖΑΧΑΡΟΠΟΥΛΟΥ¹, ΕΥΤΥΧΙΑ ΧΑΜΟΔΡΑΚΑ¹, ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΖΑΧΑΡΟΠΟΥΛΟΣ², ΜΑΝΩΛΗΣ ΚΑΛΛΙΣΤΡΑΤΟΣ¹, ΕΛΕΝΑ ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΙΔΗ³, CRISTIAN MORNOS¹, ΑΝΔΡΕΑΣ ΠΙΤΤΑΡΑΣ¹, ΙΩΑΝΝΗΣ ΧΙΩΤΕΛΗΣ¹, ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ Ι. ΜΑΝΩΛΗΣ¹, ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ ΓΑΒΡΑΣ⁵

¹Καρδιολογικό Τμήμα, Ασκληπιείο Βούλας, Αθήνα, ²Τμήμα Περιθάλψης και Κοινωνικής Μέριμνας, Ανώτατο Τεχνολογικό Ίδρυμα Κρήτης, ³Καρδιολογικό Τμήμα, Αττικό Νοσοκομείο, ⁵Hypertension Section, Boston University School of Medicine

Λέξεις ευρετηρίου:
Γενετική ανάλυση, υπέρταση, N-μεθυλοτρανσφεράση, μητρική κληρονομικότητα, μιτοχονδριακό DNA.

Ημερ. παραλαβής
εργασίας:
18 Ιουνίου 2012·
Ημερ. αποδοχής:
5 Ιουλίου 2012

Διεύθυνση
Επικοινωνίας:
Νίκος Κουρέμενος

Πραξιτέλους 48,
167 77 Ελληνικό
e-mail: [nikoskouremenos@
yahoo.gr](mailto:nikoskouremenos@yahoo.gr)

Εισαγωγή: Η ιδιοπαθής υπέρταση είναι μια πολυπαραγοντική νόσος στην οποία εμπλέκονται περιβαλλοντικοί, γενετικοί και άλλοι παράγοντες. Όμως πολύ λίγα στοιχεία υπάρχουν στον τομέα της γενετικής. Στα πλαίσια ενός ερευνητικού προγράμματος του NIH των ΗΠΑ μελετήσαμε το ρόλο διαφόρων γονιδίων στην υπέρταση σε οικογένειες Αφρικανο-Αμερικανών, Καυκάσιων-Αμερικανών και Ελλήνων.

Ασθενείς και Μέθοδοι: Από 128 οικογένειες με ιστορικό υπέρτασης, μελετήσαμε 1.474 άτομα. Από το σύνολο των εξετασθέντων 273 άνδρες ηλικίας 58±8 έτη ήταν υπερτασικοί και 286 γυναίκες ηλικίας 63±6 έτη παρουσίαζαν υπέρταση. Ελήφθησαν 410 δείγματα DNA από τα οποία δημιουργήθηκαν ζεύγη αδελφών υπερτασικών (sibling pairs). Έγινε συνολική ανάλυση των αποτελεσμάτων αλλά και σύγκριση του ελληνικού δείγματος ως προς τις 2 άλλες ομάδες.

Αποτελέσματα: Μετά τη μελέτη του ανωτέρω δείγματος ευρέθησαν 2 δείκτες στο χρωμόσωμα 17 να συνδέονται με την αυξημένη αρτηριακή πίεση στον Καυκάσιο πληθυσμό, συσχέτιση του γονιδίου PNMT με την υπέρταση στους Αφρικανο-Αμερικανούς αλλά όχι στους Καυκάσιους, σημαντική συσχέτιση απλών νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (single nucleotide polymorphisms) με όλες τις ομάδες, υψηλότερη ποικιλομορφία του γονιδιώματος και του α2β receptor locus, χαμηλότερο linkage disequilibrium σε Αφρικανο-Αμερικανούς ως προς Αμερικανούς και Έλληνες, ενώ δεν βρέθηκε σχέση με την υπέρταση. Επίσης ως προς το ρόλο της κληρονομικής προδιάθεσης στην ανάπτυξη της υπέρτασης σε σχέση με τους γονείς φαίνεται ότι η παρουσία υπέρτασης στη μητέρα υπερτασικών ασθενών ήταν σημαντικά υψηλότερη στις Αφρικανοαμερικάνες και τις Ελληνίδες ως προς τις Αμερικάνες (81,7%, 84,8%, και 65%) και λιγότερο του πατέρα (50%, 48,3% και 44,9%) αντίστοιχα.

Συμπέρασμα: Παρότι ευρέθη συσχέτιση γενετικών παραγόντων με την υπέρταση δεν κατέστη δυνατή η ανεύρεση γονιδίου, η θεραπεία του οποίου θα έλυne το πρόβλημα της αντιμετώπισης της υπέρτασης. Παρόλα αυτά ο σημαντικός ρόλος της Ελληνίδας μητέρας ως προς τις Αμερικανίδες-Καυκάσιες και ως προς τον πατέρα στην εμφάνιση της υπέρτασης χρήζει περαιτέρω ελέγχου.

Η ιδιοπαθής υπέρταση είναι μια πολυπαραγοντική νόσος, στην αύξηση της οποίας συμμετέχουν γενετικοί, αγγειοσυσπαστικοί, περιβαλλοντικοί και άλλοι παράγοντες.¹ Η κληρονομική φύση της ιδιοπαθούς υπέρτασης έχει καθιερωθεί σε πολλές οικογενειακές

μελέτες: έως και το 30% της διακύμανσης της αρτηριακής πίεσης θεωρείται ότι είναι γενετικά καθορισμένη και η γενετική προδιάθεση ενός ατόμου να εμφανίσει υπέρταση κυμαίνεται μεταξύ 15-35%.² Το επιβαρημένο οικογενειακό ιστορικό σχετίζεται με τον κίνδυνο εκδή-

λωσης αρτηριακής υπέρτασης, φαινόμενο που εξαρτάται άμεσα από την ηλικία του ατόμου αλλά και από τον αριθμό των υπερτασικών συγγενών. Όταν ένα άτομο έχει πρώτου βαθμού συγγένεια με έναν υπερτασικό ασθενή, τότε εμφανίζει διπλάσιο κίνδυνο σε σχέση με το γενικό πληθυσμό να εμφανίσει υπέρταση. Ο προαναφερόμενος κίνδυνος τετραπλασιάζεται όταν παράλληλα αυξάνεται και ο αριθμός των πρώτου βαθμού υπερτασικών συγγενών.^{3,4}

Τα άτομα που ανήκουν βέβαια σε μία οικογένεια δεν μοιράζονται μόνο το κοινό γονιδιακό υπόβαθρο αλλά και τις κοινές περιβαλλοντικές συνθήκες. Σε οικογένειες με φυσικά και υιοθετημένα τέκνα είναι δυνατόν να διακρίνει κανείς τις γονιδιακές από τις περιβαλλοντικές επιδράσεις. Επειδή η συσχέτιση ως προς την εμφάνιση υπέρτασης είναι ισχυρότερη μεταξύ φυσικών αδελφών (ή μεταξύ γονέων και φυσικών παιδιών) και ασθενέστερη μεταξύ υιοθετημένων τέκνων (ή μεταξύ γονέων και υιοθετημένων τέκνων) φαίνεται ότι η παρατηρούμενη εμφάνιση υπέρτασης μεταξύ των μελών της ίδιας οικογένειας έχει σημαντική γενετική προδιάθεση. Τέλος, μελέτες σε δίδυμα αδέρφια έδειξαν ότι υπάρχει μεγαλύτερη συσχέτιση των τιμών αρτηριακής πίεσης μεταξύ των μονοζυγωτικών διδύμων σε σχέση με τα διζυγωτικά, τονίζοντας ακόμη περισσότερο το ρόλο των γονιδίων στο φαινότυπο της αρτηριακής πίεσης.^{5,6} Οι συγκεκριμένες μελέτες θεωρούνται ότι αντικατοπτρίζουν πλήρως τη γενετική προδιάθεση καθώς τα δίδυμα αδέρφια, είτε μονοζυγωτικά είτε διζυγωτικά, υφίστανται τη δράση παρόμοιων περιβαλλοντικών παραγόντων.⁶

Υπάρχουν αυξημένες ενδείξεις ότι οι πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις μεταξύ γονιδίων και περιβάλλοντος διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στον καθορισμό του κινδύνου εμφάνισης διαφόρων κοινών νόσων, όπως είναι η υπέρταση.⁷ Είναι πλέον αποδεκτό ότι ορισμένοι περιβαλλοντικοί παράγοντες δρουν ως ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης, προάγοντας την εκδήλωση μιας ασθένειας και επιταχύνοντας ή επιβραδύνοντας την εξέλιξη της σε ένα άτομο με σαφή γενετική προδιάθεση.^{8,9}

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων ετών οι μελέτες γενετικής της ιδιοπαθούς υπέρτασης έχουν αυξηθεί κατακόρυφα, επιτρέποντας όμως μόνο μερική κατανόηση των εμπλεκόμενων μοριακών μηχανισμών, μια και όπως ήδη ελέχθη η υπέρταση είναι πολυπαραγοντική νόσος. Οι μελέτες αυτές αφορούν αναλύσεις συσχέτισης της ανάπτυξης υπέρτασης ή μη, με συγκεκριμένες γονιδιακές θέσεις, είτε εξετάζοντας το σύνολο του γονιδιώματος (genome-wide

association studies, GWAS) είτε επικεντρώνοντας σε συγκεκριμένα γονίδια ή πολυμορφισμούς (candidate gene association studies, CGAS). Θα πρέπει να τονιστεί ότι οι περισσότερες μελέτες δεν μπόρεσαν να οδηγήσουν στην ανίχνευση γενετικών αλλαγών που να σχετίζονται αναμφισβήτητα με την ανάπτυξη της νόσου. Αυτή η σχετικά μικρή επιτυχία των μελετών οφείλεται στο γεγονός ότι η υπέρταση αποτελεί το φαινοτυπικό αποτέλεσμα πολυάριθμων γενετικών αλλαγών, οι οποίες δρουν αθροιστικά και οδηγούν στον παθολογικό φαινότυπο.¹⁰ Παρόλα αυτά, και οι δύο τύποι αναλύσεων έχουν οδηγήσει με αργά αλλά σταθερά βήματα, στην ταυτοποίηση ορισμένων γενετικών θέσεων ή ακόμη και παθολογικών αλληλομορφών, τα οποία σχετίζονται άμεσα με την ιδιοπαθή υπέρταση.¹¹

Στα πλαίσια των γενετικών ελέγχων για την ανάδειξη τυχόν γονιδίων που εμπλέκονται στην ανάπτυξη αρτηριακής υπέρτασης, το Αντιυπερτασικό Ιατρείο της Καρδιολογικής Κλινικής του Τζανείου Νοσοκομείου, με υπεύθυνο τον Α. Ι. Μανώλη συμμετείχε σε ένα μεγάλο ερευνητικό πρόγραμμα του Εργαστηρίου Υπέρτασης και Αθηροσκλήρυνσης της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου της Βοστώνης (ΗΠΑ), το οποίο χρηματοδοτήθηκε από το Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας της αμερικανικής κυβέρνησης (National Institute of Health, NIH-SCORE). Το Αντιυπερτασικό μας ιατρείο στην αρχή συμμετείχε ως συνεργαζόμενο με το Πανεπιστήμιο της Βοστώνης, στην ανανέωση του προγράμματος όμως λόγω του μεγάλου αριθμού υπερτασικών οικογενειών που είχε μελετήσει συμμετείχε ως ανεξάρητο κέντρο, αλλά πάντα υπό την εποπτεία και του καθηγητού κ. Χ. Γαβρά

Η παρούσα μελέτη αποτελεί τμήμα μεγαλύτερης μελέτης στην οποία συμπεριλήφθηκαν οικογένειες Ελλήνων Καυκάσιων, Αφροαμερικανών και Αμερικανών Καυκάσιων. Το δείγμα των Ελλήνων θεωρήθηκε πολύ σημαντικό, καθώς περιελάμβανε οικογένειες με μεγάλο αριθμό παιδιών, πολλά από τα οποία ήταν υπερτασικά και των οποίων το γενετικό υλικό μελετήθηκε εκτενώς (Εικόνα 1). Τα στοιχεία από τις ελληνικές οικογένειες αναλύθηκαν ξεχωριστά αλλά ταυτόχρονα συγκρίθηκαν με τα αποτελέσματα των Αφροαμερικανών και Αμερικανών Καυκάσιων. Στην παρούσα μελέτη παρουσιάζονται όλα τα γονίδια και οι πολυμορφισμοί του πυρηνικού DNA, οι αντίστοιχοι πολυμορφισμοί στο μιτοχονδριακό DNA των ασθενών καθώς και στατιστική ανάλυση της μητρικής και της πατρικής συμβολής στην κληρονομικότητα της υπέρτασης.

Μεθοδολογία

Συνολικά μελετήθηκαν περισσότερες από 500 οικογένειες από τις ΗΠΑ, την Ελλάδα, τη Βραζιλία, τη Νότιο Αφρική και άλλες χώρες. Στο δείγμα της ανωτέρω μελέτης περιλαμβάνονται 128 οικογένειες Ελληνικής καταγωγής (Καυκάσιοι), ανεξαρτήτως οικογενειακού ιστορικού, από τους οποίους ζητήθηκε έγγραφη συγκατάθεση για τη συμμετοχή τους στο παρόν ερευνητικό πρωτόκολλο, σύμφωνα με τους κανονισμούς έρευνας και δεοντολογίας. Στη συνέχεια, οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε πλήρη κλινική εξέταση και καταγράφηκαν όλες οι πληροφορίες που απαιτούσε το πρωτόκολλο καθώς και πληροφορίες για τα υπόλοιπα άτομα της οικογένειας. Μετά τη συμπλήρωση του ερωτηματολογίου, σε όλα τα υπέρτασια άτομα ελήφθη ποσότητα αίματος, η οποία εστάλη με ξηρό πάγο στο Πανεπιστήμιο της Βοστώνης για γενετική ανάλυση. Συγχρόνως εστάλησαν και αντίγραφα των ιστορικών για την πλήρη αξιοποίηση των στοιχείων.

Για τη μελέτη των πολυμορφισμών του γονιδίου που κωδικοποιεί την NEDD4L λιγάση της ουβικιτίνης, το ολικό DNA απομονώθηκε από κύτταρα ολικού αίματος, ποσοτικοποιήθηκε και στο πυρηνικό DNA πραγματοποιήθηκε ανάλυση αλληλουχίας (DNA sequencing, Applied Biosystems) μετά από πολλαπλασιασμό του εξωνίου-στόχου με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) και καθαρισμό του προϊόντος (AMPure solid-phase reversible immobilisation, Agencourt). Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε ανάλυση των νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (SNPs, single nucleotide polymorphisms) σε ειδικό αναλυτή (ABI 3730 DNA analyser, Applied Biosystems).¹³

Για τη μελέτη των γονιδίων PMNT και των υποδοχέων B1 & B2 της βραδυκινίνης καθώς και του υποκινητή του γονιδίου της καταλάσης, το ολικό DNA απομονώθηκε από κύτταρα ολικού αίματος (Puregene kit, Gentra Systems). Όπως προηγουμένως έχει δημοσιευτεί,^{14,15} οι διαφορετικοί γονότυποι ανιχνεύτηκαν και καθορίστηκαν με τη δοκιμασία Homogenous MassEXTEND (Sequenom).

Για την ανάλυση του μιτοχονδριακού DNA, το ολικό DNA απομονώθηκε από κύτταρα ολικού αίματος, ποσοτικοποιήθηκε και το μιτοχονδριακό DNA (mtDNA) πολλαπλασιάστηκε με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR), με τη χρήση 58 ζευγών ολιγονουκλεοτιδίων αναφοράς, τα οποία σχεδιάστηκαν στο Εθνικό Ίδρυμα Προτύπων και Τεχνολογίας των ΗΠΑ.¹⁶ Η μεθοδολογία απομόνωσης ολικού DNA

και οι συνθήκες της PCR αναλύονται σε προηγούμενη δημοσίευση.¹² Τα δίκλιωνα προϊόντα DNA αλληλουχήθηκαν πλήρως, οι αλληλουχίες συγκρίθηκαν μέσω του προγράμματος BLAST 2 SEQUENCES με αλληλουχίες αναφοράς του mtDNA και εντοπίστηκαν συγκεκριμένες γονιδιακές μεταλλάξεις. Η ανάλυση των μεταλλάξεων στηρίχτηκε στη βάση δεδομένων MITOMAP¹⁷ με τη χρήση του προγράμματος MitoAnalyzer, το οποίο αναπτύχθηκε και πάλι στο Εθνικό Ίδρυμα Προτύπων και Τεχνολογίας των ΗΠΑ.

Στατιστική ανάλυση

Οι συνεχείς μεταβλητές με κανονική κατανομή περιγράφηκαν ως μέσος όρος \pm σταθερά απόκλιση ή στην περίπτωση της ασύμμετρης κατανομής ως διάμεσος και εύρος. Τα κατηγορικά στοιχεία παρουσιάζονται ως απόλυτες και σχετικές συχνότητες. Οι συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων εκτελέστηκαν με τη δοκιμασία t-Student, ή με χ^2 όπου ήταν κατάλληλο. Η ανάλυση της συνδιακύμανσης χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να εξετάσει τις τυχόν διαφορές μεταξύ των ομάδων μετά από την προσαρμογή για παράγοντες σύγχυσης. Όσον αφορά την επιβίωση, ανάλυση επιβίωσης πραγματοποιήθηκε με σκοπό τη σύγκριση του κινδύνου υπέρτασης μεταξύ μητέρων, πατέρων και μεταξύ των απογόνων των γονιών που νοσούσαν από υπέρταση. Οι στατιστικές αναλύσεις εκτελέστηκαν με το στατιστικό πακέτο SPSS 15.0 (SPSS A.E., Σικάγο, IL, ΗΠΑ), και η τιμή $p < 0,05$ θεωρήθηκε σημαντική.

Αποτελέσματα

Συνολικά από την Ελλάδα εξετάστηκαν 1.474 άτομα υπέρτασιων οικογενειών. Από το σύνολο των εξετασθέντων, 273 άντρες, ηλικίας 58 ± 8 παρουσίαζαν υπέρταση και από αυτούς ποσοστό 85,71% ελάμβανε αντιυπερτασική θεραπεία. Από το σύνολο των εξετασθέντων 286 γυναίκες ηλικίας 63 ± 6 παρουσίαζαν υπέρταση και ποσοστό 90,5% ελάμβανε θεραπεία. Από τους λαμβάνοντες θεραπεία ποσοστό 28,6% ελάμβανε μονοθεραπεία, ενώ ποσοστό 71,4% ελάμβανε συνδυασμένη αντιυπερτασική θεραπεία. Από τους λαμβάνοντες μονοθεραπεία ποσοστό 48,2% ήταν εντός στόχου, ενώ από τους λαμβάνοντες συνδυασμένη θεραπεία μόνο το 36% ήταν εντός στόχου. Από τους ασθενείς που ελάμβαναν θεραπεία ποσοστό 26% στους άνδρες και 28% στις γυναίκες είχε πετύχει το στόχο της αρτηριακής πίεσης (140/90

mmHg). Από τους 559 υπερτασικούς ασθενείς ποσοστό 74,8% είχε BMI>24,9, ποσοστό 25% παρουσίαζε υπερχοληστερόλαια και ποσοστό 15,5% σακχαρώδη διαβήτη. Από τους 863 μη υπερτασικούς ποσοστό 41% είχε BMI>24,9, υπερχοληστερόλαια παρουσίαζε το 6,4% και σακχαρώδη διαβήτη το 4%. Από τις 128 οικογένειες με υπέρταση η ανάλυση των στοιχείων των οικογενειών έδειξε ως προς τους γονείς ότι σε ποσοστό 9,4% υπέρταση παρουσίαζε μόνο ο πατέρας, 44,5% μόνο η μητέρα, σε ποσοστό 8,6% κανείς από τους δύο γονείς και σε ποσοστό 36,7% και οι δύο γονείς. Από τις 128 οικογένειες ελήφθη αίμα από 410 άτομα σύμφωνα με τα κριτήρια εισαγωγής του πρωτοκόλλου, και έγινε γενετική ανάλυση. Στη συνέχεια παραθέτουμε τα αποτελέσματα της γενετικής ανάλυσης τόσο συνολικά, όσο και τα αποτελέσματα που αφορούν τον ελληνικό πληθυσμό στις περιπτώσεις εκείνες που υπάρχουν σημαντικές διαφορές ως προς τις άλλες ομάδες (Αμερικανούς και Αφροαμερικανούς). Πιο αναλυτικά, παρουσιάζονται οι πολυμορφισμοί εκείνοι που φαίνεται να συνδέονται με την κληρονομικότητα της υπέρτασης και εντοπίζονται στους υποκινητές των γονιδίων της N-μεθυλοτρανσφεράσης, της καταλάσης, εντός της κωδικής περιοχής του γονιδίου της NEDD4L λιγάσης της ουβικιτίνης καθώς και πολυμορφισμοί στο μιτοχονδριακό DNA των ασθενών. Παράλληλα δείχνεται ότι οι πολυμορφισμοί του γονιδίου του α2B αδρενεργικού υποδοχέα δεν σχετίζονται με την εμφάνιση ιδιοπαθούς υπέρτασης. Τέλος, παρουσιάζεται στατιστική ανάλυση της μητρικής και της πατρικής συμβολής στην κληρονομικότητα της υπέρτασης.

Τα αποτελέσματα έχουν παρουσιαστεί ξεχωριστά σε μελέτες που έχουν ήδη δημοσιευτεί σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά^{12-15,19,21-23,26} και έχουν συμβάλει καθοριστικά στη μελέτη της ανάπτυξης και κληρονομικότητας της ιδιοπαθούς υπέρτασης.

Προσδιορισμός πολυμορφισμών στον υποκινητή του γονιδίου της N-μεθυλοτρανσφεράσης

Σε ό,τι αφορά τα πυρηνικά γονίδια που ενοχοποιούνται για την ιδιοπαθή υπέρταση, υπάρχουν πολλές ανεξάρτητες μελέτες που συσχετίζουν συγκεκριμένη περιοχή του 17ου χρωμοσώματος του ανθρώπου με τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης.¹⁸⁻²⁰ Η ανάλυση του γενετικού υλικού από τα δείγματα υπερτασικών ασθενών της παρούσας εργασίας αποκάλυψε τη συσχέτιση μιας περιοχής του 17ου χρωμοσώματος του ανθρώπου με τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης.²⁶ Ακολούθησε προσδιορισμός της συγκεκριμένης πε-

ριοχής, η οποία εντοπίστηκε μεταξύ των γενετικών θέσεων D17S1814 και D17S800 του 17ου χρωμοσώματος και πιθανότατα σχετίζεται με το γονίδιο της N-μεθυλοτρανσφεράσης (PNMT), το οποίο εντοπίζεται μέσα στην ίδια περιοχή (θέση 17q21), περίπου 38cM πριν το τελομερές του χρωμοσώματος. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε μελέτη συσχέτισης μεταξύ δύο πολυμορφισμών (SNPs) της περιοχής του υποκινητή του PNMT γονιδίου, των PNMT-148 και PNMT-343 και της ανάπτυξης ιδιοπαθούς υπέρτασης, σε δείγμα ασθενών τριών εθνικοτήτων: Αφρο-Αμερικανοί, λευκοί Αμερικανοί και Έλληνες. Θα πρέπει να τονιστεί ότι οι συγκεκριμένοι πολυμορφισμοί πράγματι σχετίζονται με την ανάπτυξη υπέρτασης μόνο στους Αφρο-Αμερικανούς.¹⁴

Προσδιορισμός πολυμορφισμών στο γονίδιο της NEDD4L λιγάσης της ουβικιτίνης

Πολύαριθμοι πολυμορφισμοί στο πρώτο εξόνιο του συγκεκριμένου γονιδίου φαίνεται να συνδέονται με την ανάπτυξη υπέρτασης τόσο στους Αφρο-Αμερικανούς, όσο στους Λευκούς Αμερικανούς και Έλληνες. Από τα 26 SNPs που εντοπίστηκαν, τα 10 συσχετίστηκαν με την εμφάνιση ορθοστατικής υπέρτασης. Πιο αναλυτικά, στους Αφρο-Αμερικανούς καταγράφηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ 7 πολυμορφισμών SNPs, των rs10515976, rs4149591, rs4149601, rs513563, rs182383, rs7228980, rs9953409 και της υπέρτασης. Μάλιστα, είναι γνωστό ότι ένας από αυτούς τους πολυμορφισμούς ενοχοποιείται για μη-φυσιολογική ωρίμανση του μεταγραφόμενου mRNA με αποτέλεσμα τη μετάφραση μη λειτουργικής πρωτεΐνης. Δύο επίσης στατιστικά σημαντικά SNPs (rs513563 και rs3865418) ανιχνεύτηκαν στο δείγμα των Λευκών Αμερικανών και άλλα δύο (rs4149589 και rs3865418) στους Έλληνες. Το γεγονός ότι ταυτοποιήθηκαν πολυμορφισμοί και στους 3 πληθυσμούς ισχυροποιεί ακόμη περισσότερο την υπόθεση ότι το συγκεκριμένο γονίδιο αποτελεί καθοριστικό γενετικό παράγοντα της αρτηριακής υπέρτασης.¹³

Προσδιορισμός πολυμορφισμών στον υποκινητή του γονιδίου της καταλάσης

Βρέθηκε ότι ο συνδυασμός 2 SNPs, των CAT-844 AA και CAT-262 CT ή TT στον υποκινητή του γονιδίου της καταλάσης (CAT) σχετίζεται, στατιστικώς σημαντικά, με την ανάπτυξη ιδιοπαθούς υπέρτασης στο δείγμα των Ελλήνων υπερτασικών ασθενών. Στο

δείγμα των Αφρο-Αμερικάνων που επίσης μελετήθηκε, δεν βρέθηκε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση.¹⁵

Οι πολυμορφισμοί του γονιδίου του α2B αδρενεργικού υποδοχέα δεν σχετίζονται με την εμφάνιση ιδιοπαθούς υπέρτασης

Μεταξύ των γενετικών αιτιών που ευθύνονται για την ανάπτυξη της ιδιοπαθούς υπέρτασης, τα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες που συμμετέχουν στη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης, όπως τα γονίδια των α-και β-αδρενεργικών υποδοχέων, είναι προφανείς υποψήφιοι. Είναι γνωστό ότι το μονοπάτι σηματοδότησης του α2-αδρενεργικού υποδοχέα παίζει σημαντικό ρόλο στο συμπαθητικό νευρικό σύστημα, καθώς μεσολαβεί η δράση της επινεφρίνης και της νορεπινεφρίνης. Για την αξιολόγηση του δυναμικού ρόλου μεταξύ του α2B υποδοχέα και της ιδιοπαθούς υπέρτασης, αναλύθηκαν οι γενετικές παραλλαγές του γονιδίου σε 108 ζεύγη αδερφών που εμφάνισαν υπέρταση, μεταξύ των οποίων και Έλληνες ασθενείς.²¹ Τα αποτελέσματα της γενετικής ανάλυσης αποκάλυψαν δύο κύριες μορφές του υποδοχέα, οι οποίες διαφέρουν λόγω της παρουσίας είτε εννέα ή δώδεκα καταλοίπων γλουταμινικού οξέος στην όξινη περιοχή του τρίτου κυτταροπλασματικού βρόχου του πρωτεϊνικού υποδοχέα. Παρόλα αυτά, βρέθηκε ότι αυτές οι συγκεκριμένες παραλλαγές δεν συμβάλλουν ουσιαστικά στη γενετική προδιάθεση της ιδιοπαθούς υπέρτασης.

Οι υπερτασικές μητέρες έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να αποκτήσουν υπερτασικούς απογόνους

Προηγούμενη μελέτη της ερευνητικής μας ομάδας²² έδειξε οι συγγενείς υπερτασικών ασθενών παρουσιάζουν μεγαλύτερη προδιάθεση εμφάνισης ιδιοπαθούς υπέρτασης, υποστηρίζοντας το γενετικό υπόβαθρο της νόσου. Πιο αναλυτικά, δείχθηκε ότι η πιθανότητα εμφάνισης υπέρτασης ήταν υψηλότερη για τους γονείς και τους αδερφούς των ασθενών συ-

γκριτικά με τις συζύγους τους. Επίσης, η πιθανότητα εγκεφαλικού βρέθηκε στατιστικώς σημαντικά υψηλότερη στους υπερτασικούς γονείς και αδερφούς συγκριτικά με τους νορμοτασικούς ασθενείς, υποδεικνύοντας ότι αυτές οι δύο παθολογικές καταστάσεις πιθανόν να ελέγχονται από ορισμένους κοινούς γενετικούς παράγοντες.

Πιο λεπτομερής στατιστική μελέτη στον ίδιο δείγμα Ελλήνων ασθενών έδειξε ότι όταν η μητέρα είναι υπερτασική, τότε η πιθανότητα να αποκτήσουν υπερτασικούς απογόνους είναι μεγαλύτερη.²³ Το μελετούμενο δείγμα καταρχήν κατηγοριοποιήθηκε με βάση το αν ήταν γνωστή ή άγνωστη η υπερτασική κατάσταση των γονέων τους. Το ποσοστό των πατέρων με άγνωστη υπερτασική κατάσταση είναι μεγαλύτερο συγκριτικά με εκείνο των μητέρων (Πίνακας 1) αλλά αυτή η διαφορά δεν είναι στατιστικά σημαντική ($p=0,050$).

Η υπόθεση ότι η μητρική κληρονομικότητα παίζει ρόλο στην κληρονομία της υπέρτασης μπορεί να εξεταστεί συγκρίνοντας τα ποσοστά των υπερτασικών μητέρων και πατέρων των υπερτασικών ασθενών του δείγματος μελέτης. Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντικό αυξημένο ποσοστό υπερτασικών μητέρων ($p=0,01$) σε σχέση με το ποσοστό των υπερτασικών πατέρων (Πίνακας 2). Πιο αναλυτικά, το ποσοστό των υπερτασικών πατέρων είναι 55%, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό στις μητέρες αγγίζει το 85%.

Σε αυτό το σημείο θα πρέπει να σημειωθεί ότι η ίδια παρατήρηση έχει αναφερθεί και σε υπερτασικούς ασθενείς άλλων εθνικοτήτων (Πίνακας 3),²³ όπως Αφροαμερικανοί και Καυκάσιοι Αμερικανοί, γεγονός που ενισχύει την ορθότητα της υπόθεσής μας.

Πίνακας 1. Κατηγοριοποίηση με βάση το αν ήταν γνωστή ή άγνωστη η υπερτασική κατάσταση των γονέων.

	Μητέρες		Πατέρες	
Δείγμα	Γνωστή	Άγνωστη	Γνωστή	Άγνωστη
Καυκάσιοι	118 (96,7%)	4 (3,3%)	114 (95%)	6 (5%)
Έλληνες (n=122)				

Πίνακας 2. Κατηγοριοποίηση των Ελλήνων γονέων με κριτήριο την ανάπτυξη ή μη υπέρτασης.

	Μητέρες		Πατέρες		p-value*
Δείγμα	Υπερτασικές	Νορμοτασικές	Υπερτασικοί	Νορμοτασικοί	
Καυκάσιοι	100 (84,8%)	18 (15,2%)	55 (48,3%)	59 (51,7%)	0,001
Έλληνες (n=122)					

* Σύγκριση μεταξύ του ποσοστού των υπερτασικών πατέρων και μητέρων. Με το σύμβολο p παριστάται το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας

Πίνακας 3. Κατηγοριοποίηση των Αμερικανών γονέων με κριτήριο την ανάπτυξη ή μη υπέρτασης.

Δείγμα	Μητέρες		Πατέρες		p-value*
	Υπερτασικές	Νορμοτασικές	Υπερτασικοί	Νορμοτασικοί	
Αφροαμερικανοί (n=69)	49 (81,7%)	11 (18,3%)	26 (50%)	26 (50%)	0,001
Καυκάσιοι Αμερικανοί (n=153)	93 (65%)	50 (35%)	53 (44,9%)	65 (55,1%)	0,001

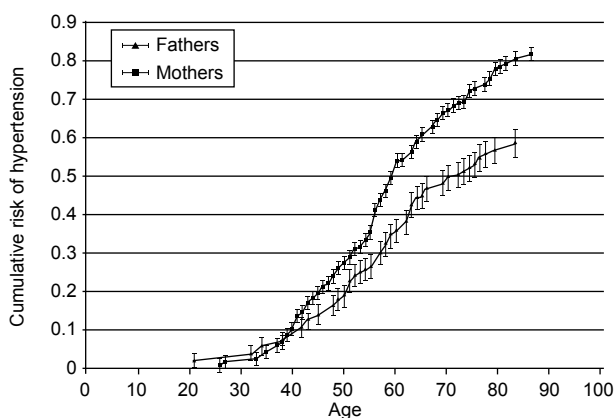
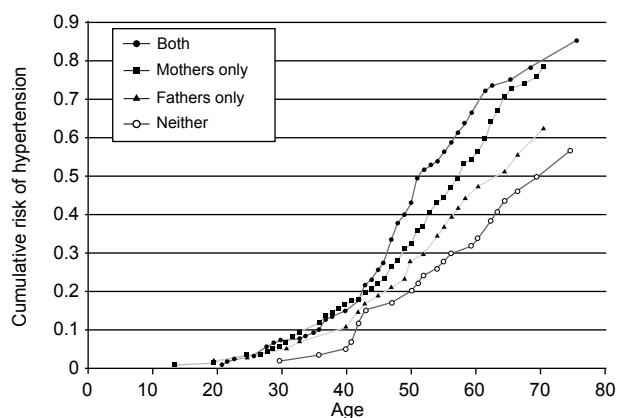
Στη συγκεκριμένη μελέτη, στην οποία συμπεριλήφθηκε και το δείγμα Ελλήνων της παρούσας εργασίας, δείχνεται ότι το ποσοστό των υπερτασικών μητέρων κυμαινόταν μεταξύ 65-85%, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό στους πατέρες ήταν μόλις 50%. Τα αποτελέσματα και από τις τρεις ομάδες ασθενών (Αφροαμερικανοί και Καυκάσιοι Αμερικανοί και Έλληνες) μελετήθηκαν συνολικά και πραγματοποιήθηκε ανάλυση επιβίωσης (Εικόνα 1). Η αθροιστική κατανομή του διά βίου κινδύνου της υπέρτασης ήταν στατιστικώς σημαντική μεταξύ μητέρων και πατέρων ($p \leq 0,001$). Παρά το γεγονός ότι το ρίσκο ήταν παρόμοιο στις νεαρές ηλικίες, μετά την ηλικία των 55 ετών οι μητέρες εμφάνιζαν υψηλότερο ρίσκο ανάπτυξης υπέρτασης. Η μέση ηλικίας ανάπτυξης υπέρτασης στις μητέρες (56,7) δεν ήταν σημαντικά διαφορετική από εκείνη των πατέρων (55,7) ($p > 0,25$).

Για την περαιτέρω μελέτη της μητρικής κληρονομικής της υπέρτασης, εξετάστηκε η υπερτασική κατάσταση των αδερφών των ατόμων του δείγματος, αντλώντας και πάλι πληροφορίες από τα ερωτηματολόγια. Βρέθηκε λοιπόν ότι το 58,3% των απογόνων υπερτασικών μητέρων ήταν επίσης υπερτασικά, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό για τους υπερτασικούς πατέρες ήταν μόλις 30% ($p = 0,0192$). Αντίστοιχα αποτελέσματα, αν και όχι στατιστικά σημαντικά, αναφέρο-

νται και για τους Αφροαμερικανούς και τους Καυκάσιους Αμερικανούς.²³ Στην Εικόνα 2 παρουσιάζεται ο διά βίου κίνδυνος ανάπτυξης υπέρτασης των αδερφών των ασθενών σε σχέση με την ηλικία και την υπερτασική κατάσταση των γονέων. Τα αποτελέσματα αφορούν και τις τρεις ομάδες ασθενών (Αφροαμερικανοί και Καυκάσιοι Αμερικανοί και Έλληνες) συνολικά χωρίς να ληφθεί υπόψη η εθνικότητά τους.

Όπως ήταν αναμενόμενο, ο κίνδυνος ανάπτυξης υπέρτασης είναι μεγαλύτερος όταν νοσούν και οι δύο γονείς και μικρότερος όταν κανένας από τους γονείς δεν νοσεί. Οι απόγονοι υπερτασικών μητέρων παρουσίαζαν στατιστικώς σημαντικό μεγαλύτερο ρίσκο ανάπτυξης υπέρτασης συγκριτικά με τους απόγονους υπερτασικών πατέρων ($p < 0,01$).

Αυτή η στατιστικά σημαντική συσχέτιση των επιπέδων αρτηριακής πίεσης μεταξύ μητέρας και απογόνου μας οδήγησαν στη μελέτη και στον εντοπισμό συγκεκριμένων πολυμορφισμών στο mtDNA, καθώς τα μιτοχονδριακά γονίδια των απογόνων είναι αποκλειστικά μητρικής προέλευσης. Πιο αναλυτικά, πραγματοποιήθηκε πλήρης αλληλούχιση του mtDNA 20 απογόνων (10 Αφρο-Αμερικανοί & 10 λευκοί, εκ των οποίων και Έλληνες). Η σύγκριση με ειδικές αλληλουχίες αναφοράς, γνωστές ως Cambridge ή CRS, αποκάλυψε 297 σημειακές με-

**Εικόνα 1.** Υπολογισμός του αθροιστικού διά βίου κινδύνου (cumulative lifetime risk) ανάπτυξης υπέρτασης σε μητέρες (mothers) και πατέρες (fathers) υπερτασικών ατόμων.²³**Εικόνα 2.** Υπολογισμός του αθροιστικού διά βίου κινδύνου (cumulative lifetime risk) ανάπτυξης υπέρτασης των αδερφών των ασθενών σε σχέση με την ηλικία και την υπερτασική κατάσταση των γονέων.²³

ταλλάξεις που περιλαμβάνουν 24 στα rRNA γονίδια, 15 στα tRNA γονίδια καθώς και 46 αμινοξικές παραλλαγές (Πίνακας 4) με τις υπόλοιπες να ανιχνεύονται σε μη κωδικοποιούσες περιοχές ή αποτελούν συνώνυμες μεταλλάξεις. Ο αριθμός των παραλλαγών (variants) στους Αφροαμερικανούς είναι μεγαλύτερος σε σύγκριση με τον αντίστοιχο των λευκών ατόμων του δείγματος, ένα αποτέλεσμα αναμενόμενο, καθώς οι αλληλουχίες αναφοράς CRS προέρχονται από άτομο ευρωπαϊκής καταγωγής.²⁴ Οι 30 από τις 46 αμινοξικές παραλλαγές είναι μοναδικές, καθώς δεν υπήρχαν καταχωρημένες στη βάση δεδομένων MITOMAP, η οποία είναι απόλυτα ενημερωμένη, καθώς περιέχει καταχωρημένες παραλλαγές του mtDNA από δείγματα ατόμων σε όλον τον κόσμο. Από τους 20 υπερτασικούς απογόνους, οι 13 περιείχαν τουλάχιστον μια μοναδική παραλλαγή, συνήθως σε συνδυασμό με ήδη καταγεγραμμένες μεταλλάξεις. Δύο απόγονοι (CG2 και CG3) περιείχαν σιωπηλές μεταλλάξεις.

Συζήτηση

Η ιδιοπαθής υπέρταση είναι μια πολυπαραγοντική νόσος, που επηρεάζει κυρίως νεαρής και μέσης ηλικίας ενήλικους, οφείλεται στην επίδραση συγκεκριμένων γενετικών παραγόντων πέρα των άλλων μηχανισμών που ήταν γνωστοί έως σήμερα. Πρόκειται απ

ότι φαίνεται για μια διαταραχή άγνωστης έως τώρα αιτιολογίας που επηρεάζει περίπου το 20% του πληθυσμού και αποτελεί έναν από τους κύριους παράγοντες κινδύνου για αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, έμφραγμα του μυοκαρδίου και νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου.²³

Η γενετική προδιάθεση της υπέρτασης έχει καταγραφεί εδώ και δεκαετίες,²² με αποτέλεσμα τη διεξαγωγή γενετικών μελετών για την ανίχνευση και τη συσχέτιση συγκεκριμένων πολυμορφισμών που να σχετίζονται με τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης.^{14,18-20,25,26} Παρόλα αυτά, οι γενετικοί παράγοντες που καθορίζουν την ιδιοπαθή υπέρταση παραμένουν ανεπαρκώς κατανοητοί και το πρότυπο κληρονομικότητας τους ασαφές. Υπάρχουν πολυάριθμοι υποψήφιοι γενετικοί παράγοντες που θα μπορούσαν να ταυτοποιηθούν, βασιζόμενοι στις δυσλειτουργίες του καρδιαγγειακού και νεφρικού συστήματος των υπερτασικών ασθενών αλλά και στο ήδη γνωστό μονοπάτι της φυσιολογίας της υπέρτασης.

Η προσπάθεια ανίχνευσης γονιδίων που να σχετίζονται με την ιδιοπαθή υπέρταση παρουσιάζει τεράστιες δυσκολίες: ο μεγάλος αριθμός γονιδίων, το συνδυαστικό αποτέλεσμα της έκφρασής τους, οι πιθανοί γενετικοί πολυμορφισμοί κάθε γονιδίου, η φαινοτυπική ετερογένεια των ασθενών και οι διαφορετικοί περιβαλλοντικοί παράγοντες που ρυθμίζουν την αρτηριακή πίεση δυσχεραίνουν τις μελέτες.^{10,27,28}

Πίνακας 4. Σύνοψη της ανάλυσης των αλληλουχιών του mtDNA σε 20 υπερτασικούς απογόνους.

Υπερτασικός απόγονος	Απλότυπος	Σύνολο παραλλαγών	rRNA	tRNA	Αμινοξικές αλλαγές
AA1	L1b	66	6	2	12
AA2	L1b	65	7	2	12
AA3	L1b	63	4	2	13
AA4	L1c	78	3	2	13
AA5	L1c	71	3	1	15
AA6	L2b	61	6	4	7
AA7	L3b	30	3	1	5
AA8	L2a	44	4	1	3
AA9	L3d	26	2	2	6
AA10	T2	26	4	2	3
CA1	K1	27	1	3	4
CA2	K1a	29	2	2	4
CA3	H1	5	0	0	2
CA4	J2	28	0	1	6
CA5	U5a1	21	3	1	5
CA6	H	7	1	0	0
CA7	H	7	0	0	2
CG1	T2	35	1	2	8
CG2	H	3	0	0	0
CG3	H	4	0	0	0
Σύνολο μοναδικών παραλλαγών		297	24	15	46

Από τις συγκεκριμένες μελέτες έχουν ανιχνευτεί πολυμορφισμοί τόσο σε μιτοχονδριακά¹² όσο και σε πυρηνικά γονίδια.^{14,15,19,21,23,26,29}

Στην παρούσα εργασία παρουσιάζονται όλες οι περιοχές του γονιδιώματος που μελετήθηκαν ως υποψήφιοι αιτιογόνοι γενετικοί παράγοντες της ιδιοπαθούς υπέρτασης, σε συγκεκριμένο δείγμα Ελλήνων υπερτασικών ασθενών και πάντοτε σε σύγκριση με λευκούς Αμερικανούς και Αφροαμερικανούς ασθενείς.

Καταρχήν ευρέθη ότι ένας πολυμορφισμός στην περιοχή του υποκινητή του γονιδίου της Ν-μεθυλοτρανσφεράσης (PNMT) σχετίζεται στατιστικώς σημαντικά με την ανάπτυξη ιδιοπαθούς υπέρτασης σε δείγμα υπερτασικών Αφροαμερικανών, κάτι που δεν ισχύει για τα δείγματα των λευκών Αμερικανών και των Ελλήνων. Το γονίδιο PNMT εδράζεται σε συγκεκριμένη περιοχή του 17ου χρωμοσώματος, η οποία έχει συσχετιστεί και σε προηγούμενες μελέτες με τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης.¹⁸⁻²⁰ Ο πολυμορφισμός στην περιοχή του υποκινητή πιθανόν να επηρεάζει τη μεταγραφική δραστηριότητα του PNMT γονιδίου είναι να βρίσκεται σε ανισορροπία σύνδεσης (linkage disequilibrium) με κάποιον άλλον λειτουργικό πολυμορφισμό. Υπάρχουν πολλοί πιθανοί λόγοι συσχέτισης του συγκεκριμένου πολυμορφισμού με την ανάπτυξη υπέρτασης μόνο στους Αφρο-Αμερικανούς και όχι στους Έλληνες. Είναι πιθανό ότι η Ν-μεθυλοτρανσφεράση να μην έχει σημαντικό ρόλο στην κληρονομία της υπέρτασης στο λευκό πληθυσμό ή ότι ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός να μην είναι λειτουργικός. Είναι άλλωστε γνωστό ότι τα πρότυπα ανισορροπίας σύνδεσης διαφέρουν μεταξύ διαφορετικών εθνοκυμάτων.¹⁴

Στη συνέχεια καταγράφονται πολυμορφισμοί στο γονίδιο της NEDD4L λιγάσης της ουβικιτίνης που σχετίζονται με την ανάπτυξη ιδιοπαθούς υπέρτασης. Ένας από αυτούς τους πολυμορφισμούς (Α αλληλόμορφο του SNP rs4149601) ενοχοποιείται για μη φυσιολογική ωρίμανση του μεταγραφόμενου mRNA με αποτέλεσμα τη μετάφραση μη λειτουργικής πρωτεΐνης. Αυτό σημαίνει ότι ένας πολυμορφισμός του συγκεκριμένου γονιδίου μπορεί να οδηγήσει στη μείωση της ουβικιτινίωσης και αποικοδόμησης των πρωτεϊνών που λειτουργούν ως αντλίες ιόντων Na στα επιθηλιακά κύτταρα. Μια υψηλότερη πυκνότητα επιθηλιακών αντλιών Na⁺ ή ο μεγαλύτερος χρόνος παραμονής τους στην κυτταρική επιφάνεια θα οδηγούσε στην αυξημένη διαμεμβρανική μεταφορά ιόντων Na στα επιθηλιακά κύτταρα, με αποτέλεσμα την αλλαγή του ισοζυγίου Na σε θετικό πρόσημο και την αύξηση της τιμής της αρτηριακής πίεσης.¹³

Σε ό,τι αφορά τη σύνδεση πολυμορφισμών στον υποκινητή του γονιδίου της καταλάσης και την υπέρταση, βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση αυτών στο δείγμα των Ελλήνων ασθενών. Ο πολυμορφισμός CAT-844AA που προσδιορίστηκε στην παρούσα μελέτη, έχει επίσης δημοσιευτεί σε προηγούμενη μελέτη σε Κινέζους υπερτασικούς ασθενείς, στην οποία καταφράφεται συσχέτιση μεταξύ των ομόζυγων CAT-844AA ασθενών και της αυξημένης αρτηριακής πίεσης.³² Αντίθετα, είναι η πρώτη φορά που συνδέεται ο πολυμορφισμός CAT-262 SNP με τις τιμές της αρτηριακής πίεσης, αν και το CAT-262T αλληλόμορφο συνδέεται με υψηλότερα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου της καταλάσης.³³ Ο πολυμορφισμός CAT-844 SNP βρίσκεται σε μια περιοχή του υποκινητή που αναγνωρίζεται από πολυάριθμους μεταγραφικούς παράγοντες, οπότε μπορεί να επηρεάζει καθοριστικά τη μεταγραφική ενεργότητα του γονιδίου. Πιο αναλυτικά, το αλληλόμορφο CAT-844G συγκροτεί τις αλληλουχίες αναγνώρισης και δέσμευσης των MZF1 και AP2 μεταγραφικών παραγόντων, ενώ το αλληλόμορφο CAT-844A συγκροτεί αντίστοιχα θέσεις δέσμευσης των μεταγραφικών παραγόντων Ίκαρος-2 και LYK-1.³² Το CAT-262 SNP συγκροτεί τις αλληλουχίες αναγνώρισης και δέσμευσης των μεταγραφικών παραγόντων AP-1 και SP-1 και κάθε μορφή του SNP έχει αποδειχθεί ότι οδηγεί σε ένα διαφορετικό μοτίβο δεσμευόμενων πυρηνικών πρωτεϊνών άρα και σε διαφορές στη μεταγραφική δραστηριότητα του γονιδίου.³³

Επίσης, φαίνεται ότι η ιδιοπαθής υπέρταση ακολουθεί πρότυπο μητρικής κληρονομικότητας χρησιμοποιώντας τόσο στατιστικά όσο και γενετικά δεδομένα. Πιο αναλυτικά, φαίνεται ότι οι απόγονοι υπερτασικών μητέρων παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντικό μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης υπέρτασης συγκριτικά με τους απόγονους υπερτασικών πατέρων. Τα γενετικά δεδομένα που υποστηρίζουν αυτό το εύρημα, αφορούν πολυμορφισμούς του mtDNA που πιθανότατα συμβάλλουν στην κληρονομία και εμφάνιση της νόσου. Είναι πλέον ευρέως αποδεκτό ότι οι μεταλλάξεις του mtDNA συμβάλλουν καθοριστικά στην ανάπτυξη γενετικών ασθενειών,³⁰ ορισμένες από τις οποίες συνδέονται με την υπέρταση. Για παράδειγμα, η A10398G μετάλλαξη στην υπομονάδα 3 του γονιδίου που κωδικοποιεί τη NADH αφυδρογονάση, που ανιχνεύτηκε σε 12 υπερτασικά άτομα, έχει αποδειχθεί ότι εμφανίζεται με αυξημένη συχνότητα σε Αφροαμερικανούς με νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου που αναπτύσσεται λόγω υπέρτασης.³¹ Επομένως, οι μιτοχονδρια-

κές μεταλλάξεις που παρουσιάζονται στην παρούσα μελέτη μπορούν να χρησιμεύσουν ως αφετηρία για περαιτέρω μελέτες υπερτασικών ασθενών, καθώς έχουν τη δυνατότητα να συμβάλλουν, είτε μεμονωμένα είτε συνεργιστικά, στην ανάπτυξη της ιδιοπαθούς υπέρτασης.

Συμπερασματικά, τα στοιχεία μας δείχνουν ότι η τάση ανάπτυξης/κληρονομησης της ιδιοπαθούς υπέρτασης σχετίζεται άμεσα με τη γενετική ποικιλότητα στην περιοχή του υποκινητή συγκεκριμένων πυρηνικών γονιδίων αλλά και με την ποικιλότητα στο μιτοχονδριακό DNA. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι τα μοναδικά SNPs δεν μπορεί να είναι τόσο σημαντικά όσο η αλληλεπίδραση μεταξύ διαφορετικών SNPs που πιθανόν να δρουν συνεργιστικά. Τέλος, διαπιστώθηκε επίσης ότι οι γενετικοί παράγοντες που συμβάλλουν στην υπέρταση είναι πιθανό να είναι διαφορετικές μεταξύ διαφορετικών εθνικών ομάδων. Περαιτέρω μελέτες των SNPs σε ένα μεγάλο αριθμό γονιδίων που εμπλέκονται σε ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης θα πρέπει να διεξαχθούν ώστε να διαλευκανθεί ολόκληρο το φάσμα των γενετικών παραγόντων που προκαλούν την ιδιοπαθή υπέρταση.

Βιβλιογραφία

- Jacob JH. Physiological genetics: application to hypertension research. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 1999; 26: 530-535.
- Binder A. A review of the genetics of essential hypertension. *Curr Opin Cardiol*. 2007; 22: 176-184.
- Izzo J, Black H, eds. *Hypertension primer*. 3rd edn. Dallas, TX: American Heart Association; 2003.
- Fuentes RM, et al. Familial aggregation of blood pressure: a population-based family study in eastern Finland. *Journal of Human Hypertension*. 2000; 14: 441-445.
- Luft FC. Twins in cardiovascular genetic research. *Hypertension*. 2001; 37: 350-356.
- Scherrer JF, et al. A twin study of depression symptoms, hypertension, and heart disease in middle-aged men. *Psychosomatic Medicine*. 2003; 65: 548-557.
- Kunes J, Zicha J. Developmental windows and environment as important factors in the expression of genetic information: a cardiovascular physiologist's view. *Clin Sci*. 2006; 111: 295-305.
- Gibson G. Epistasis and pleiotropy as natural properties of transcriptional regulation. *Theor Popul Biol*. 1996; 49: 58-89.
- Jaenisch R, Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet*. 33: 245-254, 2003.
- Rafiq S, Anand S, Roberts R. Genome-wide association studies of hypertension: have they been fruitful? *J Cardiovasc Transl Res*. 2010; 3: 189-196.
- Ehret GB. Genome-wide association studies: contribution of genomics to understanding blood pressure and essential hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2010; 12: 17-25.
- Schwartz F, Duka A, Sun F, Cui J, Manolis A, Gavras H. Mitochondrial genome mutations in hypertensive individuals. *Am J Hypertens*. 2004; 17: 629-635.
- Russo CJ, Melista E, Cui J, et al. Association of NEDD4L ubiquitin ligase with essential hypertension. *Hypertension*. 2005; 46: 488-491.
- Cui J, Zhou X, Chazaro I, et al. Association of polymorphisms in the promoter region of the PNMT gene with essential hypertension in African Americans but not in whites. *Am J Hypertens*. 2003; 16: 859-863.
- Zhou XF, Cui J, DeStefano AL, et al. Polymorphisms in the promoter region of catalase gene and essential hypertension. *Dis Markers*. 2005; 21: 3-7.
- Levin BC, Cheng H, Reeder DJ. A human mitochondrial DNA standard reference material for quality control in forensic identification, medical diagnosis, and mutation detection. *Genomics*. 1999; 55: 135-146.
- Wallace DC, Lott MT: MITOMAP: A Human Mitochondrial Genome Database. Available at: <http://www.mitomap.org>. Accessed 2003.
- Knight J, Munroe PB, Pembroke JC, Caulfield MJ. Human chromosome 17 in essential hypertension. *Ann Hum Genet*. 2003; 67: 193-206.
- Cui J, Melista E, Chazaro I, et al. Sequence variation of bradykinin receptors B1 and B2 and association with hypertension. *J Hypertens*. 2005; 23: 55-62.
- Julier C, Delepine M, Keavney B, et al. Genetic susceptibility or human familial essential hypertension in a region of homology with blood pressure linkage on rat chromosome 10. *Hum Mol Genet*. 1997; 6: 2077-2085.
- Baldwin CT, Schwartz F, Baima J, et al. Identification of a polymorphic glutamic acid stretch in the alpha2B-adrenergic receptor and lack of linkage with essential hypertension. *Am J Hypertens*. 1999; 12: 853-857.
- Nicolaou M, DeStefano AL, Gavras I, et al. Genetic predisposition to stroke in relatives of hypertensives. *Stroke*. 2000; 31: 487-492.
- DeStefano AL, Gavras H, Heard-Costa N, et al. Maternal component in the familial aggregation of hypertension. *Clin Genet*. 2001; 60: 13-21.
- Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*. 1981; 290: 457-465. 12-15, 19, 21-23, 26
- Puddu P, Puddu GM, Cravero E, Ferrari E, Muscari A. The genetic basis of essential hypertension. *Acta Cardiol*. 2007; 62: 281-293.
- Baima J, Nicolau M, Schwartz F, et al. Evidence for linkage between essential hypertension and a putative locus on human chromosome 17. *Hypertension*. 1999; 34: 4-7.
- Doris P. Hypertension genetics, single nucleotide polymorphisms, and the common disease: common variant hypothesis. *Hypertension*. 2002; 39: 323-331.
- Harrap SB. Hypertension: genes versus environment. *Lancet*. 1994; 344: 169-171.
- Levy D, DeStefano A, Larson M, et al. Evidence for a gene influencing blood pressure on chromosome 17: genome scan linkage results for longitudinal blood pressure phenotypes in subjects from the Framingham Heart Study. *Hypertension*. 36: 2000; 477-483.
- Wallace DC. A mitochondrial paradigm for degenerative diseases and ageing. *Novartis Found Symp*. 2001; 235: 247-263; discussion 263-266.
- Watson B Jr, Khan MA, Desmond RA, Bergman S. Mitochondrial DNA mutations in black Americans with hypertension-associated end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis*.

- 2001; 38: 529-536.
32. Jiang Z, Akey JM, Shi J, et al. A polymorphism in the promoter region of catalase is associated with blood pressure levels, *Hum Genet.* 2001; 109: 95-98.
33. Forsberg L, Lyrenas L, de Faire U, Morgenstern R. A common functional C-T substitution polymorphism in the promoter region of the human catalase gene influences transcription factor binding, reporter gene transcription and is correlated to blood catalase levels, *Free Radic Biol Med.* 2001; 30: 500-505.