

## Artículo original

## Aterosclerosis coronaria en pacientes hipertensos: el papel de la variabilidad genética del fibrinógeno



Nikolaos Papageorgiou<sup>a,b</sup>, Alexandros Briasoulis<sup>a,d</sup>, Georgios Hatzis<sup>a</sup>, Emmanuel Androulakis<sup>a,e</sup>, Maria Kozanitou<sup>a</sup>, Antigoni Miliou<sup>a</sup>, Marietta Charakida<sup>c</sup>, Effimia Zacharia<sup>a</sup>, Spyridon Papaioannou<sup>a</sup>, Ioannis Paroutoglou<sup>a</sup>, Gerasimos Siasos<sup>a</sup>, Zoi Pallantza<sup>a</sup> y Dimitris Tousoulis<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> 1st Cardiology Department, Athens University Medical School, Hippokration Hospital, Atenas, Grecia

<sup>b</sup> Barts Heart Centre, St. Bartholomew's Hospital, Londres, Reino Unido

<sup>c</sup> Department of Cardiovascular Imaging, King's College, Londres, Reino Unido

<sup>d</sup> Cardiovascular Institute, Wayne State University, Detroit, Estados Unidos

<sup>e</sup> Department of Cardiology, John Radcliffe, Oxford University Hospital, Oxford, Reino Unido

## Historia del artículo:

Recibido el 18 de diciembre de 2015

Aceptado el 17 de mayo de 2016

On-line el 21 de agosto de 2016

## Palabras clave:

Enfermedad coronaria

Fibrinógeno

Hipertensión

Polimorfismos

## RESUMEN

**Introducción y objetivos:** Se examina si los polimorfismos rs180070 y rs2070011 del gen del fibrinógeno podrían afectar al riesgo de enfermedad coronaria de los pacientes hipertensos al modificar el proceso inflamatorio y la coagulación.

**Métodos:** Se practicó una angiografía coronaria a causa de síntomas de angina estable a 744 participantes, de los que 332 tenían hipertensión.

**Resultados:** La presencia del alelo A (rs180070) se asoció a cifras de fibrinógeno significativamente elevadas en los pacientes hipertensos ( $p = 0,05$ ). En el análisis multivariable, la homocigosis para A (rs180070) ( $\beta = 0,257 \pm 18,6$ ;  $p < 0,001$ ), pero no la presencia de hipertensión ( $\beta = 0,05 \pm 11,9$ ;  $p = 0,29$ ), fue un factor independiente predictivo de la concentración de fibrinógeno. En los pacientes hipertensos, la concentración de fibrinógeno  $> 443$  mg/dl (odds ratio = 3,50; intervalo de confianza del 95%, 1,14-10,90;  $p = 0,029$ ), pero no la homocigosis para A (odds ratio = 3,00; intervalo de confianza del 95%, 0,78-11,90;  $p = 0,110$ ), fueron un factor independiente predictivo de enfermedad coronaria. Además, los valores de interleucina 6 fueron más altos en los individuos homocigotos para el polimorfismo rs180070 que en todos los demás genotipos ( $p = 0,046$ ). De hecho, este genotipo fue el único factor independiente predictivo de la concentración de interleucina 6 en el análisis ajustado ( $\beta = 0,151 \pm 0,642$ ;  $p = 0,032$ ). También se asoció a cifras de dímero D superiores en la hipertensión en comparación con los portadores del alelo G ( $p = 0,048$ ).

**Conclusiones:** La presencia de homocigosis para A (rs180070) se asocia a un aumento de las concentraciones de mediadores inflamatorios y mayor incidencia de enfermedad coronaria angiográfica. Tiene importancia que el fibrinógeno es un factor independiente predictivo de la presencia angiográfica de enfermedad coronaria en los pacientes hipertensos.

© 2016 Sociedad Española de Cardiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

## Coronary Artery Atherosclerosis in Hypertensive Patients: The Role of Fibrinogen Genetic Variability

## ABSTRACT

**Introduction and objectives:** We examined whether the rs180070 and rs2070011 polymorphisms of the fibrinogen gene could affect the risk of coronary artery disease in hypertensive patients by modifying the inflammatory process and coagulation.

**Methods:** A total of 744 participants underwent coronary angiography due to symptoms of stable angina, while hypertension was present in 332 patients.

**Results:** The presence of the A allele (rs180070) was associated with significantly high levels of fibrinogen in hypertensive patients ( $P = .05$ ). On multivariate analysis, A homozygosity (rs180070) ( $\beta = 0.257 \pm 18.6$ ;  $P < .001$ ), but not hypertension status ( $\beta = 0.05 \pm 11.9$ ;  $P = .29$ ) was an independent predictor of fibrinogen levels. In hypertensive patients, higher fibrinogen levels  $> 443$  mg/dL (odds ratio = 3.50; 95% confidence interval, 1.14-10.90;  $P = .029$ ), but not A homozygosity (odds ratio = 3.00; 95% confidence interval, 0.78-11.90;  $P = .110$ ) were independent predictors of the presence of coronary artery disease. Moreover, interleukin-6 levels were higher in A homozygotes for the rs180070 polymorphism compared with all other genotypes ( $P = .046$ ). Indeed, this genotype was the only adjusted independent predictor of interleukin-6

## Keywords:

Coronary artery disease

Fibrinogen

Hypertension

Polymorphisms

\* Autor para correspondencia: Athens University Medical School, Hippokration Hospital, Vasilisis Sofias 114, 115 28 Atenas, Grecia.  
Correo electrónico: drtousoulis@hotmail.com (D. Tousoulis).

levels ( $\beta = 0.151 \pm 0.642$ ;  $P = .032$ ). It was also associated with higher D-dimer levels in hypertension compared with G allele carriers ( $P = .048$ ).

**Conclusions:** The presence of A homozygosity (rs180070) is associated with increased levels of inflammatory mediators and a higher incidence of angiographic coronary artery disease. Importantly, fibrinogen is an independent predictor of the angiographic presence of coronary artery disease in hypertensive patients.

Full English text available from: [www.revespcardiol.org/en](http://www.revespcardiol.org/en)

© 2016 Sociedad Española de Cardiología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

## Abreviaturas

EC: enfermedad coronaria

HT: hipertensión

IL-6: interleucina 6

PCRus: proteína C reactiva ultrasensible

## INTRODUCCIÓN

Actualmente se reconoce claramente el papel que desempeñan las vías inflamatorias y trombóticas en la progresión de la aterosclerosis<sup>1,2</sup>. Además, la hipertensión (HT) es un importante factor de riesgo de enfermedad cardiovascular, mientras que la inflamación vascular tiene un papel crucial en todas las fases de la aterosclerosis. En concreto, en presencia de factores de riesgo como la HT, la inflamación vascular se acentúa y se asocia a las manifestaciones clínicas de la enfermedad coronaria (EC)<sup>3,4</sup>.

De entre los demás biomarcadores, el fibrinógeno tiene un perfil de marcador doble. Interviene en la respuesta inflamatoria, con lo que constituye un biomarcador inflamatorio, y también en las vías de la coagulación dando lugar a disfunción endotelial y aterosclerosis<sup>2,5</sup>. Además, en estudios previos se ha descrito una asociación independiente de la concentración plasmática de fibrinógeno con el riesgo de EC<sup>2,5</sup>. Los pacientes con síndromes coronarios agudos presentan generalmente cifras de fibrinógeno más altas que los pacientes con EC estable o los controles sanos<sup>6</sup>, mientras que en algunas ocasiones el fibrinógeno parece tener más efecto en el riesgo de EC que los factores de riesgo clásicos, como la HT<sup>7</sup>.

La evidencia reciente resalta el posible papel de la variabilidad genética del fibrinógeno en el riesgo de EC, pero los datos existentes son controvertidos. Así pues, los estudios previos señalaban un posible efecto regulador de los polimorfismos genéticos, como el rs180070 y el rs2070011, en los valores de fibrinógeno y el riesgo de EC, mientras que otros estudios no respaldan esta posibilidad<sup>8-10</sup>. Además, la interacción farmacológica entre los factores de riesgo cardiovascular y los polimorfismos del fibrinógeno no se ha esclarecido todavía por completo.

El objetivo del presente estudio es examinar la asociación de los polimorfismos de nucleótido único del fibrinógeno con la presencia de una EC obstructiva en los pacientes hipertensos. Además, se investigó si esta interacción puede dar lugar a un aumento de la incidencia de EC angiográfica a través de sus efectos en el proceso inflamatorio y la coagulación.

## MÉTODOS

### Población del estudio

Formaron la población en estudio 744 participantes caucásicos ingresados en un periodo de 3 años en nuestro hospital para una

angiografía coronaria a causa de síntomas de angina de pecho estable. El diagnóstico de EC se estableció angiográficamente en presencia de una estenosis > 50% en al menos 1 de las 3 arterias coronarias principales o sus ramas mayores. Según la guía de la Sociedad Europea de Cardiología, se consideró que los participantes eran hipertensos si tenían la presión arterial sistólica  $\geq 140$  mmHg o la diastólica  $\geq 90$  mmHg en 2 ocasiones diferentes o estaban en tratamiento en ese momento con fármacos antihipertensivos<sup>11</sup>. Se consideró que los participantes tenían hiperlipemia si se detectaba una concentración de colesterol total  $\geq 220$  mg/dl en los análisis de bioquímica o estaban en tratamiento con medicación hipolipemiente<sup>12</sup>. Asimismo se consideró que los participantes tenían diabetes mellitus si la glucosa plasmática en ayunas era  $\geq 126$  mg/dl, la glucosa plasmática sin ayuno era  $\geq 200$  mg/dl, la glucohemoglobina A<sub>1c</sub> era > 7% o estaban en tratamiento con fármacos hipoglucemiantes<sup>13</sup>. Se definió como fumadores actuales a los participantes que habían fumado entre 1 y 10 cigarrillos/día durante al menos el último año<sup>14</sup>. Los criterios de exclusión fueron la existencia de cualquier enfermedad inflamatoria o infecciosa, enfermedad hepática o renal, cáncer, insuficiencia cardíaca definida como fracción de eyección < 45% o antecedentes de trombosis venosa profunda o embolia pulmonar. Para evitar posibles influencias de las técnicas de intervención, se obtuvieron muestras de sangre antes de la angiografía coronaria o de la intervención coronaria percutánea. Se obtuvo el consentimiento informado de todos los pacientes y el protocolo del estudio se atuvo a lo establecido en las directrices éticas de la Declaración de Helsinki de 1975 que se reflejaban en la autorización obtenida *a priori* por el comité de investigación humana del centro.

### Extracción del ADN y determinación del genotipo

Se extrajeron aproximadamente 5 ml de sangre en tubos con contenido de ácido etilendiaminotetraacético. Se extrajo el ADN genómico a partir de entre 2 y 5 ml de sangre total, utilizando métodos estándar (QIAamp DNA blood kit; Qiagen, West Sussex, Reino Unido). Para la detección del rs180070 (cadena beta) y el rs2070011 (cadena alfa), se utilizó un análisis de polimorfismo de restricción de longitud mediante reacción en cadena de la polimerasa. Con objeto de amplificar una parte del gen (mediante reacción en cadena de la polimerasa), se utilizaron los cebadores intrónicos de flanqueo anterógrado (5'-GAACATTTACCTTATGTGAATTAAGG-3') e inverso (5'-GAAGCTCCAAGAACCATCC-3') para el primer polimorfismo. Además, para el segundo polimorfismo se utilizaron los cebadores anterógrado (5'-TGCAACAGCTTATCGGAAGC-3') e inverso (5'-GTGGAATAAACACCAGAGAG-3'). Los productos resultantes se digirieron con las enzimas de restricción HaeIII y AclI respectivamente (resolución mediante electroforesis en gel de agarosa al 2%). Los fragmentos digeridos se visualizaron tras la tinción con bromuro de etidio bajo luz ultravioleta. Para el control de calidad de la reacción en cadena de la polimerasa, se seleccionó aleatoriamente el 5% de las muestras y se determinó

2 veces su genotipo para la garantía de calidad; la concordancia obtenida fue del 100%.

interleucina (IL) 6 y ligando soluble de CD40 mediante un ELISA (R&D Systems Inc.; Estados Unidos).

## Análisis bioquímico

Se indicó a todos los participantes que se abstuvieran de fumar y consumir bebidas que contuvieran alcohol o cafeína durante la noche anterior (durante 12 h) a la obtención de las muestras de sangre. Las muestras de sangre venosa se centrifugaron a 3.500 rpm a 4 °C durante 15 min y se obtuvo el plasma o el suero, que se conservó a -80 °C hasta el momento del análisis. Se determinaron las concentraciones séricas de fibrinógeno con el método de Clauss (Multifibren U, Siemens; Alemania) y dímero D con un método inmunonefelométrico (Innovance D-Dimer, Siemens; Alemania), y se determinó también la proteína C reactiva ultrasensible (PCRus). Asimismo, se determinó la actividad de factor V en plasma con un análisis de una sola etapa basado en el tiempo de protrombina (déficit de factor V, Dade Behring; Alemania) y del factor X con un método de una sola etapa empleando e plasma con déficit de factor X de un solo donante con un analizador Dade Behring C BCS Coagulation Analyzer (Deerfield; Illinois, Estados Unidos). Se determinaron las concentraciones de

## Análisis estadístico

Las variables cualitativas se presentan en forma de frecuencias relativas. Se evaluó si las variables continuas tenían una distribución normal con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Los datos de distribución normal se expresan en forma de media  $\pm$  error estándar de la media. Los datos de distribución no normal se presentan en forma de mediana [intervalo intercuartílico]. Para las variables discretas se utilizó la prueba de la  $\chi^2$  o la exacta de Fisher para comparar las distribuciones de 2 o más grupos. Se aplicaron pruebas de la t de Student para datos no apareados en las comparaciones de las variables continuas de distintos tratamientos. Analizamos si las frecuencias de los alelos se atenían a las proporciones de equilibrio de Hardy-Weinberg con la prueba de la  $\chi^2$ . El desequilibrio de ligamiento entre los 2 polimorfismos de nucleótido único se evaluó con el programa informático *online* de Rodríguez et al.<sup>15</sup>. Se utilizó un análisis de regresión logística múltiple para estimar las *odds ratio* (OR) y los intervalos de confianza del 95% (IC95%) para la EC como función de los polimorfismos rs180070 y rs2070011, y los valores de fibrinógeno

**Tabla 1**  
Características basales según los terciles de concentración de fibrinógeno

Variable	1.º tercil (< 347 mg/dl)	2.º tercil (347-443 mg/dl)	3.º tercil (> 443 mg/dl)	p
Pacientes, n	198	195	196	
Edad (años)	59,0 $\pm$ 11,2	61,8 $\pm$ 11,0	62,3 $\pm$ 10,6	0,010
Sexo (varones)	147 (74,4)	142 (73,7)	151 (77,1)	0,700
Tabaquismo	101 (50,9)	93 (48,1)	94 (48,4)	0,860
Dislipemia	119 (60,3)	111 (57,7)	125 (64,5)	0,430
Hipertensión	112 (56,9)	123 (63,8)	133 (68,2)	0,090
DM	32 (16,1)	51 (26,2)	54 (27,5)	0,020
<i>Perfil lipídico*</i>				
Colesterol total (mg/dl)	194 $\pm$ 43	186 $\pm$ 43	187 $\pm$ 42	0,31
LDL (mg/dl)	122 $\pm$ 74	117 $\pm$ 40	119 $\pm$ 39	0,7
HDL (mg/dl)	46 $\pm$ 12	43 $\pm$ 11	42 $\pm$ 11	0,16
Triglicéridos (mg/dl)	123 $\pm$ 74	125 $\pm$ 61	112 $\pm$ 52	0,3
<i>Medicaciones</i>				
Estatinas	100 (50,6)	117 (60,2)	123 (62,7)	0,24
Ezetimiba	12 (6,0)	29 (14,8)	17 (8,7)	0,19
Fibratos	0 (0,0)	0 (0,0)	7 (3,6)	0,06
IECA/ARA-II	93 (47,0)	96 (49,2)	110 (56,1)	0,4
Bloqueadores beta	108 (54,5)	116 (59,5)	118 (60,2)	0,74
AC	55 (27,8)	55 (28,2)	55 (28,0)	1
Diuréticos	29 (14,6)	34 (17,4)	55 (28,0)	0,07
Hipoglucemiantes orales	18 (9,0)	39 (20,0)	25 (12,7)	0,14
Insulina	3 (1,5)	8 (4,1)	4 (2,0)	0,5
<i>Distribución de genotipos</i>				
rs180070 GG	109 (55,4)	104 (53,3)	92 (46,9)	< 0,001
rs180070 GA	81 (40,7)	77 (39,7)	70 (35,4)	
rs180070 AA	8 (3,8)	14 (7,1)	34 (17,7)	
rs2070011 GG	71 (36,2)	70 (35,8)	70 (35,7)	0,670
rs2070011 GA	82 (41,4)	90 (46,1)	96 (48,4)	
rs2070011 AA	45 (22,4)	35 (18,2)	30 (15,8)	

AC: antagonistas del calcio; ARA-II: antagonistas del receptor de la angiotensina II; DM: diabetes mellitus; HDL: lipoproteínas de alta densidad; IECA: inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina; LDL: lipoproteínas de baja densidad.

Salvo otra indicación, los datos expresan n (%) o media  $\pm$  error estándar.

Los valores de p se basan en un análisis de la varianza para las variables continuas que tienen una distribución normal y en la prueba de la  $\chi^2$  para las variables discretas.

\* Corresponde a todos los pacientes de cada grupo.

con un ajuste respecto a los factores de riesgo tradicionales, como edad, sexo, HT, diabetes mellitus, hipercolesterolemia y tabaquismo. Se realizó un análisis multivariable escalonado tomando los parámetros bioquímicos determinados como variables dependientes y los factores de riesgo y los polimorfismos como variables independientes. Se utilizó también un análisis de la varianza para comparar las medias de 3 o más variables en el análisis multivariable, con objeto de determinar los factores independientes predictivos de EC angiográfica e infarto agudo de miocardio. Todas las pruebas de significación fueron bilaterales y se realizaron con un nivel de significación del 5%. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa SPSS (IBM SPSS Statistics, versión 22.0).

**RESULTADOS**

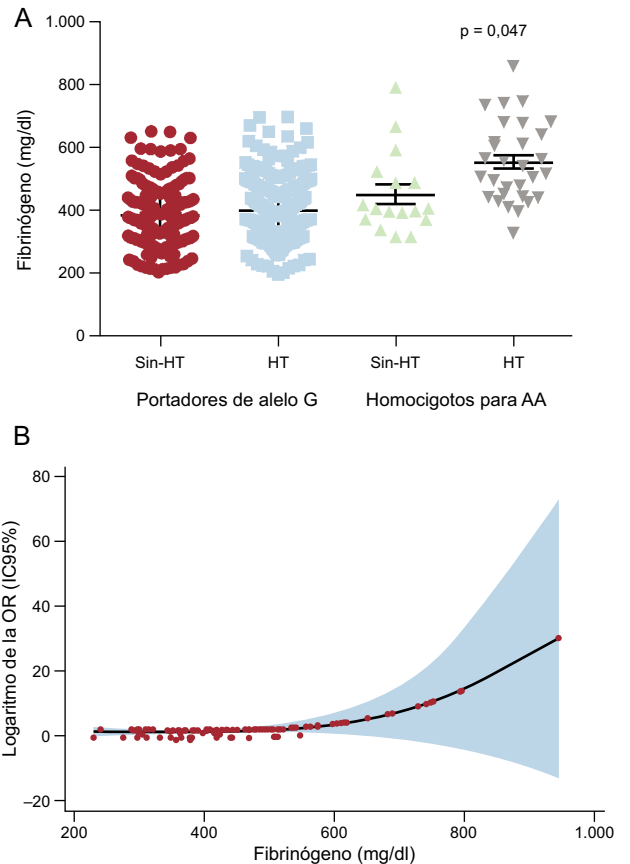
En la **tabla 1** se presentan las características demográficas de los 744 pacientes consecutivos examinados en nuestro centro durante un periodo de 3 años, así como la distribución de genotipos según los terciles de fibrinógeno. De estos pacientes, 332 tenían HT. Tenían una EC 448 pacientes, mientras que en 296 no se observó. Es de destacar que no se observaron diferencias en el perfil lipídico o la medicación entre los 3 grupos (**tabla 1**). En nuestra cohorte de estudio, las prevalencias de los alelos A de rs180070 y rs2070011 fueron similares en los pacientes con y sin EC (p = 0,339 y p = 0,988 respectivamente).

**Efectos de rs180070 y rs2070011 en la concentración de fibrinógeno y el riesgo de enfermedad coronaria**

En la cohorte total, hubo un efecto significativo de la presencia del alelo A de rs180070 (genotipos AA y AG) en la concentración sérica de fibrinógeno (AA o AG frente a GG, 424,26 ± 7,74 frente a 401,20 ± 6,64 mg/dl; p = 0,025). Es importante señalar que los homocigotos AA tenían unas concentraciones de fibrinógeno significativamente mayores que los portadores del alelo G (503,4 ± 18,8 frente a 402,6 ± 5,14 mg/dl; p < 0,001). En cambio, la presencia del alelo A de rs2070011 no se asoció a un aumento del fibrinógeno (AA frente a AG o GG, 417,1 ± 6,9 frente a 404,4 ± 8,8 mg/dl; p = 0,26) en los pacientes con HT.

*Concentración de fibrinógeno*

También se clasificó a los pacientes en tres subcategorías según los valores de fibrinógeno (< 347, 347-443 y > 443 mg/dl) (**tabla 1**). Se examinaron también los efectos de estos polimorfismos en las concentraciones séricas de fibrinógeno de los pacientes con HT. Se observó un aumento progresivo de estas: la presencia del alelo A de rs180070 (genotipos AA y AG) se asoció con valores significativamente superiores en los participantes con HT (433,36 ± 10,90 frente a 405,70 ± 8,80 mg/dl; p = 0,047), mientras que la homocigosis de AA de rs180070 se asoció también a cifras superiores



**Figura 1.** A: concentración de fibrinógeno en los pacientes hipertensos según el polimorfismo rs180070, presentados como media ± desviación estándar. B: logaritmo de la OR de la enfermedad coronaria según la concentración de fibrinógeno en los pacientes hipertensos. HT: hipertensión; IC95%: intervalo de confianza del 95%; OR: odds ratio.

**Tabla 2**

Análisis multivariable de los factores predictivos de la concentración de fibrinógeno

	Cohorte total		Hipertensos	
	β ± EE	p	β ± EE	p
Genotipo rs180070 AA	0,257 ± 18,6	< 0,001	0,322 ± 23,2	< 0,001
EC	0,252 ± 12,8	≤ 0,001	0,2 ± 16,7	< 0,001
HT	0,05 ± 11,9	0,290	—	—

EC: enfermedad coronaria; EE: error estándar; HT: hipertensión.

(541,03 ± 25,20 frente a 405,20 ± 6,80 mg/dl; p < 0,001) (**figura 1A**). La presencia del alelo A de rs2070011 no tuvo efectos significativos en la concentración de fibrinógeno de los pacientes con HT. En el análisis multivariable, la homocigosis de AA de rs180070 (β = 0,257 ± 18,6; p < 0,001) y la EC (β = 0,252 ± 12,8; p ≤ 0,001), pero no la HT (β = 0,05

**Tabla 3**

Efectos de la concentración y los polimorfismos del fibrinógeno en el riesgo de enfermedad coronaria

	Hipertensos		Cohorte total	
	OR (IC95%)	p*	OR (IC95%)	p*
Genotipo rs180070 AA	3,00 (0,78-11,90)	0,110	3,20 (1,01-10,10)	0,049
Genotipo rs2070011 AA	0,79 (0,43-1,46)	0,450	1,10 (0,68-1,76)	0,700
Concentraciones de fibrinógeno (> 443 frente a < 347 mg/dl)	3,50 (1,14-10,90)	0,029	3,90 (1,70-9,40)	0,002
Concentraciones de fibrinógeno (347-443 frente a < 347 mg/dl)	0,80 (0,39-1,64)	0,540	1,02 (0,46-2,24)	0,970

IC95%: intervalo de confianza del 95%; OR: odds ratio.

\* Ajustado por edad, sexo, tabaquismo, hipercolesterolemia, hipertensión, diabetes mellitus y concentración de proteína C reactiva ultrasensible.

**Tabla 4**

Asociación de los biomarcadores inflamatorios con las concentraciones de fibrinógeno en la cohorte total

Fibrinógeno (mg/dl)	PCRus (mg/dl)	IL-6 (ng/ml)	Dímero D (mg/dl)
Concentraciones superiores (> 443)	0,23 [0,11-0,39]	4,52 ± 0,26	586,00 ± 40,90
Concentraciones intermedias (347-443)	0,15 [0,03-0,36]	3,67 ± 0,24	479,40 ± 28,00
Cuartil inferior (< 347)	0,13 [0,01-0,35]	3,70 ± 0,30	383,90 ± 34,60

IL-6: interleucina 6; PCRus: proteína C reactiva ultrasensible.

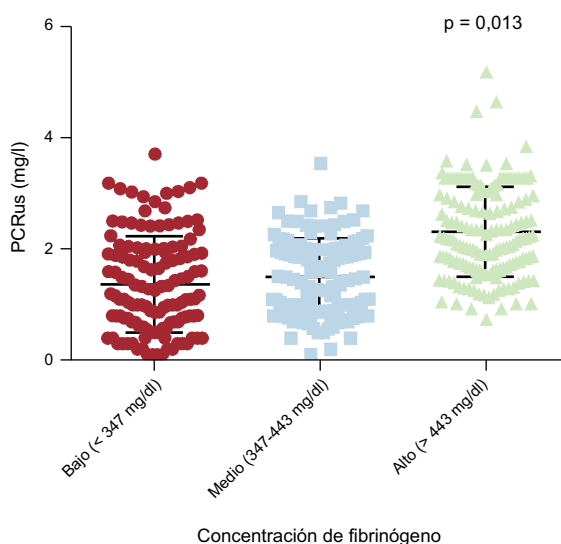
Los datos se presentan en forma de media ± error estándar o mediana [intervalo intercuartílico].

± 11,9;  $p = 0,290$ ), fueron factores independientes predictivos de la concentración de fibrinógeno. En los pacientes con HT, el genotipo AA de rs180070 ( $\beta = 0,322 \pm 23,2$ ;  $p < 0,001$ ) y la EC ( $\beta = 0,2 \pm 16,7$ ;  $p < 0,001$ ) continuaban siendo factores independientes predictivos del fibrinógeno (tabla 2).

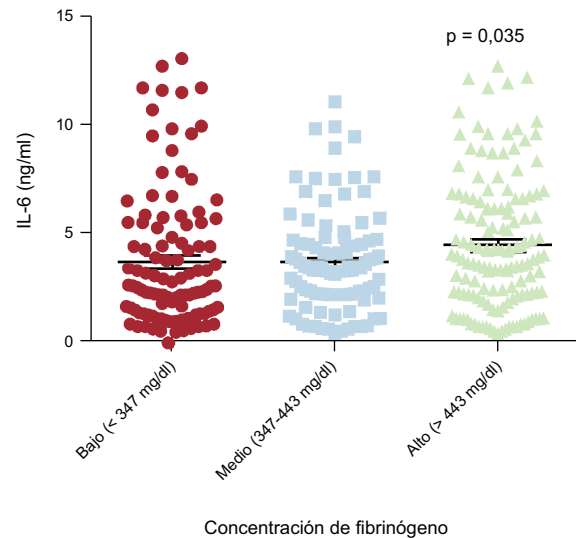
### Riesgo de enfermedad coronaria

El análisis de regresión logística multivariable tras un ajuste respecto a edad, sexo, tabaquismo, hipercolesterolemia, HT, diabetes mellitus y log (PCRus) como factores predictivos independientes puso de manifiesto que las cifras de fibrinógeno > 443 mg/dl se asociaban a mayor riesgo de EC (OR = 3,90; IC95%, 1,70-9,40;  $p = 0,002$ ) en comparación con las < 347 mg/dl en la población general. En cambio, la subcategoría de concentración de fibrinógeno intermedia no tuvo efecto significativo en el riesgo de EC (OR = 1,02; IC95%, 0,46-2,24;  $p = 0,970$ ), mientras que la presencia de AA (rs180070) se asoció también significativamente al aumento del riesgo de EC (OR = 3,20; IC95%, 1,01-10,10;  $p = 0,049$ ) (tabla 3).

En los pacientes hipertensos, los valores de fibrinógeno máximos > 443 mg/dl (OR = 3,50; IC95%, 1,14-10,90;  $p = 0,029$ ) (figura 1B), pero no el genotipo AA de rs180070 (OR = 3,00; IC95%, 0,78-11,90;  $p = 0,110$ ) fueron factor independiente predictivo de EC. En nuestra cohorte total, se observó que la presencia de los alelos A de rs180070 (OR = 1,36; IC95%, 0,63-2,95;  $p = 0,434$ ) y rs2070011 (OR = 0,99; IC95%, 0,56-1,78;  $p = 0,995$ ) no se asociaba con la gravedad angiográfica de la EC. Por último, la homocigosis de



**Figura 2.** Concentración de proteína C reactiva ultrasensible (PCRus) según la concentración de fibrinógeno.



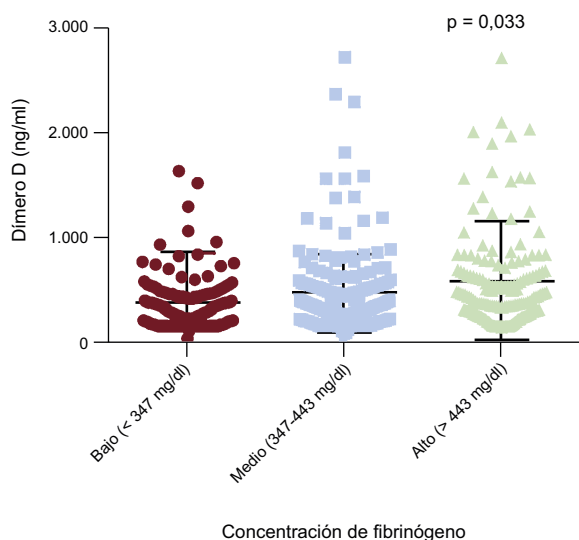
**Figura 3.** Concentración de interleucina 6 (IL-6) según la concentración de fibrinógeno.

AA de rs180070 (OR = 1,87; IC95%, 0,37-8,90;  $p = 0,46$ ) y de AA de rs2070011 (OR = 0,75; IC95%, 0,39-1,43;  $p = 0,378$ ) no se asociaron con la aparición de infarto agudo de miocardio en la cohorte total. Tampoco se detectó asociación entre los homocigotos para AA (rs180070) y el infarto agudo de miocardio en los participantes con HT. El riesgo de EC sin ajustar para los portadores del alelo A (rs2070011, AA o AG) no fue significativo (OR = 1,003; IC95%, 0,72-1,40;  $p = 0,988$ ). En los subgrupos de pacientes con HT, el riesgo de EC sin ajustar no fue significativo en los portadores del alelo A de rs2070011. El carácter homocigoto (AA, rs2070011) no se asoció a un aumento del riesgo de EC en la cohorte total (OR = 1,10; IC95%, 0,68-1,76;  $p = 0,700$ ) (tabla 3).

### Efectos de los polimorfismos rs180070 y rs2070011 en los mediadores inflamatorios

En la cohorte total, se observó que los valores de PCRus eran más altos en el grupo de pacientes con cifras de fibrinógeno superiores que en los de cifras inferiores o intermedias (0,23 [0,11-0,39] frente a 0,15 [0,03-0,36] frente a 0,13 [0,01-0,35] mg/l;  $p = 0,013$ ) (figura 2). Sin embargo, los homocigotos AA para el polimorfismo rs180070 no tenían cifras de PCRus más altas (AA: 0,21 [0,12-0,36] frente a AG o GG 0,19 [0,05-0,37] mg/l;  $p = 0,6$ ). Además, en los pacientes con HT, los valores de PCRus fueron más altos en el grupo de pacientes con concentraciones de fibrinógeno más altas que en aquellos con valores más bajos o intermedios (0,28 [0,12-0,42] frente a 0,17 [0,04-0,38] frente a 0,18 [0,09-0,39] mg/l;  $p = 0,032$ ).

Las concentraciones de IL-6 fueron mayores en la subcategoría de fibrinógeno elevado (altos frente a intermedios frente a bajos, 4,52 ± 0,26 frente a 3,67 ± 0,24 frente a 3,70 ± 0,30 ng/ml) que en la de valores de fibrinógeno intermedios ( $p = 0,027$ ) o bajos ( $p = 0,035$ ) (figura 3). Además, se observó un efecto significativo del polimorfismo rs180070 en las cifras de IL-6 en la HT. Concretamente, fueron superiores en los homocigotos AA para el polimorfismo rs180070 que en todos los demás genotipos (AG o GG) (4,96 ± 0,69 frente a 3,70 ± 0,20 ng/ml;  $p = 0,046$ ). En los pacientes hipertensos, el análisis multivariable reveló que la homocigosis para AA (rs180070) era el único factor ajustado independiente predictivo de las cifras de IL-6 ( $\beta = 0,151 \pm 0,642$ ;  $p = 0,032$ ). En la regresión logística multivariable sobre la cohorte total, la concentración de IL-6 no se asoció con el riesgo de EC, infarto agudo de miocardio o enfermedad multivascular.



**Figura 4.** Concentración de dímero D según la concentración de fibrinógeno.

La PCRus no se observó afectada por la homocigosis para el polimorfismo rs2070011 en la cohorte total ( $p = 0,486$ ) ni en los pacientes hipertensos ( $p = 0,677$ ). En la cohorte total, la homocigosis para AA de rs180070 daba lugar a valores de CD40L significativamente más altos ( $2,55 \pm 0,35$  frente a  $2,13 \pm 0,19$  ng/ml;  $p = 0,019$ ). Sin embargo, el análisis de subgrupos de los pacientes con HT no mostró diferencia alguna en CD40L en presencia del genotipo AA (rs180070) ( $p = 0,144$ ). No se observó cambio significativo de las cifras de IL-6 o CD40L con la presencia del genotipo AA de rs2070011 entre los subgrupos estudiados.

#### Efectos de los polimorfismos rs180070 y rs2070011 en los factores de la coagulación

En la cohorte total, la concentración de dímero D fue más alta en la subcategoría de valores de fibrinógeno máximos (altos frente a intermedios frente a bajos,  $586,00 \pm 40,90$  frente a  $479,40 \pm 28,00$  frente a  $383,90 \pm 34,60$  mg/dl) en comparación con los intermedios ( $p = 0,03$ ) y los bajos ( $p = 0,001$ ) (figura 4 y tabla 4). La homocigosis para AA de rs180070 comportó valores de dímero D significativamente más altos que la de GG + GA ( $555,3 \pm 43,0$  frente a  $469,1 \pm 19,6$  ng/ml;  $p = 0,033$ ). Se observaron resultados similares con la homocigosis AA (rs180070) en los valores de dímero D en la HT en comparación con los portadores del alelo G ( $623,3 \pm 79,6$  frente a  $388,6 \pm 23,5$  ng/ml;  $p = 0,048$ ). Tras introducir un ajuste respecto a edad, sexo, tabaquismo, hipercolesterolemia, HT, diabetes mellitus y la presencia del genotipo AA (rs180070) como factores predictivos independientes, el análisis de regresión logística multivariable reveló que el dímero D se asocia a la EC (OR = 1,001; IC95%, 1,000-1,002;  $p = 0,009$ ). Al incluir en el modelo el fibrinógeno, la asociación entre el dímero D y la EC continuaba siendo significativa (OR = 1,001; IC95%, 1,000-1,001;  $p = 0,04$ ). En los subgrupos de pacientes con HT, la regresión logística no mostró asociación entre el dímero D y la EC. La presencia de los polimorfismos rs180070 o rs2070011 no tuvo relación con ningún cambio en los factores V y X, el plasminógeno o la trombina en los pacientes con HT.

#### DISCUSIÓN

Que nosotros sepamos, el presente estudio es el primero en que se examinan los efectos de los polimorfismos genéticos rs180070 y

rs2070011 en la inflamación, la coagulación y el riesgo de EC detectado en la angiografía coronaria en pacientes con HT. Se observó que la homocigosis en cuanto a AA del polimorfismo rs180070 se asociaba a concentraciones de fibrinógeno superiores y a la presencia de EC en la cohorte total, mientras que el fibrinógeno  $> 443$  mg/dl se asociaba de manera independiente a la presencia de EC en la HT. El genotipo AA (rs180070) se asociaba también a cifras de IL-6 y dímero D más altas en la HT. Asimismo los valores de esos parámetros fueron más altos en los pacientes con fibrinógeno  $> 443$  mg/dl. En la cohorte total y los pacientes hipertensos, se observó que la PCRus estaba elevada en el subgrupo de fibrinógeno alto. Estos resultados indican que la presencia del genotipo AA (rs180070) se asocia con un aumento de los mediadores inflamatorios y mayor riesgo de EC. Sin embargo, el factor predictivo de la presencia de EC más significativo fueron la concentración de fibrinógeno alta  $> 443$  mg/dl. En cambio, el polimorfismo rs2070011 no se asoció al riesgo de EC o la concentración de mediadores inflamatorios y de la coagulación.

#### Hipertensión y polimorfismos del fibrinógeno: riesgo de enfermedad coronaria

El papel de la HT en la aterosclerosis es bien conocido, y los estudios realizados han puesto de manifiesto que estos pacientes presentan un aumento del riesgo de EC. Además, se han realizado investigaciones sobre el papel de los polimorfismos del fibrinógeno en el riesgo de EC, con resultados contradictorios. Así, se ha descrito que la concentración de fibrinógeno gamma en plasma influye en el riesgo de infarto de miocardio, posiblemente por el efecto positivo en la concentración de fibrinógeno<sup>16</sup>. En cambio, el polimorfismo de -148C/T del gen de la cadena beta del fibrinógeno no mostró asociación alguna con el riesgo de EC<sup>9</sup>. La evidencia más reciente indica que hubo una asociación significativa entre la HT y el polimorfismo rs2070008 del fibrinógeno solo en las mujeres, mientras que los haplotipos del fibrinógeno no mostraron asociación con la HT tras la corrección aplicada para las comparaciones múltiples en los varones o las mujeres<sup>17</sup>. Por último, el polimorfismo rs4220 del gen de la cadena beta del fibrinógeno mostró una asociación independiente con la concentración plasmática de fibrinógeno y con la HT en participantes chinos, lo cual indica un posible papel causal del fibrinógeno en la aparición de la HT, sobre todo en los varones<sup>18</sup>.

Sin embargo, no hay datos claros sobre el papel de los polimorfismos estudiados respecto al riesgo de EC en los pacientes con HT. Nuestros resultados indican que el fibrinógeno elevado es un factor independiente predictivo del riesgo de EC en los participantes con HT. En cambio, el polimorfismo rs2070011 no afectó al fibrinógeno ni al riesgo de EC en nuestra cohorte. Aunque la homocigosis para AA (rs180070) implicó cifras de fibrinógeno más altas y riesgo de EC en la cohorte total, no se observó un efecto significativo (en el riesgo de EC) en el subgrupo de HT. Esta observación puede apuntar a que el genotipo AA no eleva el riesgo de EC de manera independiente de la concentración de fibrinógeno y los factores de riesgo principales, como la HT.

#### Hipertensión y polimorfismos del fibrinógeno: efectos en la inflamación

Varios estudios han mostrado que la HT se asocia a un aumento de los biomarcadores inflamatorios circulantes<sup>3,4</sup>. Aunque se ha examinado ampliamente este factor de riesgo, el papel de la genética no se ha esclarecido por completo en esta población. Anteriormente, el polimorfismo C148T de la cadena beta del fibrinógeno se asoció con un aumento del fibrinógeno, la PCR y la IL-6 en pacientes sometidos a un injerto de *bypass* arterial

coronario<sup>19,20</sup>. Wong et al<sup>21</sup>. señalaron que había una influencia genética clara del polimorfismo IL6-572C > G en el fibrinógeno plasmático y la PCR, en especial en los pacientes con HT. Además, el polimorfismo genético A1675G en el gen *AT2R* afecta al riesgo cardiovascular y a la gravedad de la enfermedad al fomentar la inflamación vascular, en especial en los varones hipertensos<sup>22</sup>, mientras que el polimorfismo M235T del gen del angiotensinógeno no parece que tenga efecto alguno<sup>23</sup>.

En el presente estudio, se confirma que los pacientes de riesgo elevado tienen concentraciones más altas de los biomarcadores inflamatorios. Además, los pacientes con valores de fibrinógeno altos mostraron mayores concentraciones de PCRus, IL-6 y CD40L. Esta observación indica que, entre los individuos de alto riesgo, la determinación simultánea de fibrinógeno y PCRus puede identificar a los pacientes con mayor riesgo cardiovascular. Es importante señalar que se pone de relieve, por primera vez, un efecto significativo del polimorfismo rs180070 en la IL-6 de los pacientes hipertensos. Así, los valores de IL-6 fueron más altos en los homocigotos AA para el rs180070 que en todos los demás genotipos (AG o GG) y la homocigosis en AA fue el único factor ajustado independiente predictivo de la concentración de IL-6. En la cohorte total y los pacientes con HT, el proceso inflamatorio no se afectaba por la homocigosis (AA) para el polimorfismo rs2070011.

### Hipertensión y polimorfismos del fibrinógeno: efectos en la coagulación

La evidencia existente indica que el aumento de fibrinógeno, dímero D y fragmento 1 + 2 de la protrombina plasmáticos se da en los pacientes hipertensos con una disminución leve del aclaramiento de creatinina, lo cual indica que el sistema de la coagulación está activado en estos pacientes<sup>24</sup>. Sin embargo, los datos existentes sobre los efectos de la variabilidad genética del fibrinógeno en la cascada de la coagulación en los pacientes con HT son escasos. La presencia del polimorfismo Ala379Val de la fosfolipasa A<sub>2</sub> unida a lipoproteínas afectó a los valores de fibrinógeno de una población hipertensa caucásica<sup>25</sup>, mientras que el polimorfismo Thr312Ala del fibrinógeno alfa se asoció a la HT pulmonar tromboembólica crónica<sup>26</sup>. Además, se ha descrito que los polimorfismos rs2227401 y rs2070016 de los genes del fibrinógeno se asocian a cifras de fibrinógeno significativamente superiores<sup>17</sup>, mientras que el polimorfismo rs1049636 se asocia a unas concentraciones de fibrinógeno más bajas en las mujeres, pero no en los varones<sup>17</sup>. Tan solo en una cohorte pequeña se ha observado que el estado de portador de A455 se asocia a un aumento del fibrinógeno en los pacientes con HT, pero ese estudio no examinó el riesgo de EC en esa población<sup>27</sup>.

En nuestra cohorte, se observó que la presencia del alelo A de rs180070 se asociaba a cifras de fibrinógeno significativamente superiores en los participantes hipertensos. Sin embargo, la presencia del alelo A de rs2070011 no tuvo efectos significativos en el fibrinógeno de esos pacientes. En el análisis multivariable, el genotipo AA del rs180070 y la EC continuaron siendo factores independientes predictivos de la concentración de fibrinógeno. Es importante señalar que se ha podido demostrar por primera vez que la homocigosis para AA del polimorfismo rs180070 conlleva cifras de dímero D significativamente superiores que con GG + GA y que esta diferencia sigue siendo significativa en los pacientes con HT. Es de destacar que no se observaron diferencias en el perfil lipídico o el tratamiento médico entre los grupos, lo cual indica que el riesgo cardiovascular inicial era similar en los diversos terciles del fibrinógeno<sup>28</sup>. Sin embargo, la presencia de los polimorfismos rs180070 o rs2070011 no estaba relacionada con ningún cambio en las concentraciones de los factores V y X, el plasminógeno o la trombina de los pacientes hipertensos.

### Limitaciones

La interpretación del análisis de nuestros datos tiene algunas limitaciones. En primer lugar, se trata de un estudio transversal y no se presentan datos de seguimiento clínico. Por otra parte, la gravedad de la EC no se cuantificó de manera detallada con el empleo de la puntuación SYNTAX. Por último, los posibles factores de confusión no medidos podrían afectar a la asociación entre las variantes genéticas y el riesgo de EC.

### CONCLUSIONES

Nuestro estudio muestra que el fibrinógeno es un factor independiente predictivo de EC y que esto se relaciona estrechamente con las concentraciones de aquel en la HT. Además, la homocigosis para AA de rs180070 se asocia a mayores concentraciones de fibrinógeno, IL-6 y dímero D y riesgo de EC en la cohorte total.

### CONFLICTO DE INTERESES

Ninguno.

### AGRADECIMIENTOS

Un especial agradecimiento a la señora Magdalini Sgouridi por el apoyo técnico.

### ¿QUÉ SE SABE DEL TEMA?

- El fibrinógeno es un biomarcador que interviene tanto en la respuesta inflamatoria como en las vías de la coagulación, y conduce a disfunción endotelial y aterosclerosis.
- Anteriormente se ha documentado una asociación independiente entre valores plasmáticos de fibrinógeno y riesgo de EC.
- La evidencia reciente apunta a un posible papel de la variabilidad genética del fibrinógeno en el riesgo de EC, pero los datos existentes al respecto son controvertidos.
- Los estudios previos han sido contradictorios por lo que respecta a los posibles efectos reguladores de los polimorfismos genéticos, como rs180070 y rs2070011, en cuanto a la concentración de fibrinógeno y el riesgo de EC.

### ¿QUÉ APORTA DE NUEVO?

- Este estudio demostró que la presencia del alelo A de rs180070 se asocia a cifras de fibrinógeno significativamente mayores, mientras que la presencia del alelo A de rs2070011 no tiene efecto significativo en el fibrinógeno de los participantes hipertensos.
- En el análisis multivariable, el genotipo AA del polimorfismo rs180070 y la EC continuaron siendo factores independientes predictivos de la concentración de fibrinógeno.
- La homocigosis para AA del rs180070 conlleva cifras de dímero D significativamente mayores que GG + GA, y esta diferencia sigue siendo significativa en los pacientes con HT.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Santos-Gallego CG, Picatoste B, Badimón JJ. Pathophysiology of acute coronary syndrome. *Curr Atheroscler Rep*. 2014;16:401–437.
2. Jacquemin B, Antoniadis C, Nyberg F, et al. Common genetic polymorphisms and haplotypes of fibrinogen alpha, beta, and gamma chains affect fibrinogen levels and the response to proinflammatory stimulation in myocardial infarction survivors: the AIRGENE study. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52:941–952.
3. Androulakis E, Tousoulis D, Papageorgiou N, et al. Inflammation in hypertension: current therapeutic approaches. *Curr Pharm Des*. 2011;17:4121–4131.
4. Pauletto P, Rattazzi M. Inflammation and hypertension: the search for a link. *Nephrol Dial Transplant*. 2006;21:850–853.
5. Papageorgiou N, Tousoulis D, Miliou A, et al. Combined effects of fibrinogen genetic variability on atherosclerosis in patients with or without stable angina pectoris: focus on the coagulation cascade and endothelial function. *Int J Cardiol*. 2013;168:4602–4607.
6. Gil M, Zarebiński M, Adamus J. Plasma fibrinogen and troponin I in acute coronary syndrome and stable angina. *Int J Cardiol*. 2002;83:43–46.
7. Kannel WB, Wolf PA, Castelli WP, D'Agostino RB. Fibrinogen and risk of cardiovascular disease. The Framingham Study. *JAMA*. 1987;258:1183–1186.
8. Carter AM, Mansfield MW, Stickland MH, Grant PJ. Beta-fibrinogen gene-455 G/A polymorphism and fibrinogen levels. Risk factors for coronary artery disease in participants with NIDDM. *Diabetes Care*. 1996;19:1265–1268.
9. Chen X, Xu M, Jin L, Chen J, Chen W. Association of beta-fibrinogen gene -148C/T and -455G/A polymorphisms and coronary artery disease in Chinese population: a meta-analysis. *Sci China C Life Sci*. 2008;51:814–820.
10. Kardys I, Uitterlinden AG, Hofman A, Witteman JC, De Maat MP. Fibrinogen gene haplotypes in relation to risk of coronary events and coronary and extracoronary atherosclerosis: the Rotterdam Study. *Thromb Haemost*. 2007;97:288–295.
11. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, et al. The task force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension, The task force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology. 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2007;28:1462–1536.
12. National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. 2002;106:3143–3421.
13. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes—2010. *Diabetes Care*. 2010;33(Suppl 1):S11–S61.
14. Siasos G, Tousoulis D, Vlachopoulos C, et al. Short-term treatment with L-arginine prevents the smoking-induced impairment of endothelial function and vascular elastic properties in young individuals. *Int J Cardiol*. 2008;126:394–399.
15. Rodriguez S, Gaunt TR, Day IN. Hardy-Weinberg equilibrium testing of biological ascertainment for Mendelian randomization studies. *Am J Epidemiol*. 2009;169:505–514.
16. Mannila MN, Lovely RS, Kazmierczak SC, et al. Elevated plasma fibrinogen gamma' concentration is associated with myocardial infarction: effects of variation in fibrinogen genes and environmental factors. *J Thromb Haemost*. 2007;5:766–773.
17. Kolz M, Baumert J, Gohlke H, et al. Association study between variants in the fibrinogen gene cluster, fibrinogen levels and hypertension: results from the MONICA/KORA study. *Thromb Haemost*. 2009;101:317–324.
18. Ong KL, Tso AW, Cherny SS, et al. A genetic variant in the gene encoding fibrinogen beta chain predicted development of hypertension in Chinese men. *Thromb Haemost*. 2010;103:728–735.
19. Wypasek E, Stepień E, Kot M, et al. Fibrinogen beta-chain -C148T polymorphism is associated with increased fibrinogen, C-reactive protein, and interleukin-6 in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Inflammation*. 2012;35:429–435.
20. Tosetto A, Prati P, Baracchini C, Manara R, Rodeghiero F. Association of plasma fibrinogen, C-reactive protein and G-455>A polymorphism with early atherosclerosis in the VITA Project cohort. *Thromb Haemost*. 2011;105:329–335.
21. Wong LY, Leung RY, Ong KL, Cheung BM. Plasma levels of fibrinogen and C-reactive protein are related to interleukin-6 gene -572C > G polymorphism in participants with and without hypertension. *J Hum Hypertens*. 2007;21:875–882.
22. Tousoulis D, Koumallos N, Antoniadis C, et al. Genetic polymorphism on type 2 receptor of angiotensin II, modifies cardiovascular risk and systemic inflammation in hypertensive males. *Am J Hypertens*. 2010;23:237–242.
23. Tousoulis D, Androulakis E, Papageorgiou N, et al. Genetic polymorphism M235T of angiotensinogen: effects on endothelial function and arterial stiffness in hypertensives. *Int J Cardiol*. 2012;155:501–503.
24. Catena C, Zingaro L, Casaccio D, Sechi LA. Abnormalities of coagulation in hypertensive patients with reduced creatinine clearance. *Am J Med*. 2000;109:556–561.
25. Kardara D, Tousoulis D, Antoniadis C, et al. Effects of the Ala379Val polymorphism of lipoprotein-associated phospholipase A<sub>2</sub> on thrombosis and inflammation in hypertensive patients. *Int J Cardiol*. 2011;152:247–249.
26. Suntharalingam J, Goldsmith K, Van Marion V, et al. Fibrinogen Aalpha Thr312Ala polymorphism is associated with chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Eur Respir J*. 2008;31:736–741.
27. Jastrzebska M, Goracy I, Naruszewicz M. Relationships between fibrinogen, plasminogen activator inhibitor-1, and their gene polymorphisms in current smokers with essential hypertension. *Thromb Res*. 2003;110:339–344.
28. Santos-Gallego CG, Badimón JJ. High-density lipoprotein and cardiovascular risk reduction: promises and realities. *Rev Esp Cardiol*. 2012;65:305–308.