



Malattia coronarica e depressione: il possibile ruolo dei polimorfismi del brain-derived neurotrophic factor e del gene del trasportatore della serotonina

Anna Colonna¹, Sara Bozzini², Benedetta Matrone¹, Chiara Boiocchi²,
Rossana Falcone², Alberto Benzi¹, Matteo Pistoia¹, Colomba Falcone¹

¹U.O. di Cardiologia, Ospedale Universitario "Istituti Clinici di Pavia e Vigevano, e

²Centro Interdipartimentale di Medicina Molecolare (CIRMC), Università degli Studi di Pavia, Pavia, Italia

Malattia coronarica e depressione: il possibile ruolo dei polimorfismi del brain-derived neurotrophic factor e del gene del trasportatore della serotonina

Le malattie cardiovascolari e la depressione sono due tra i più diffusi problemi di salute nel mondo. I pazienti con depressione hanno un rischio aumentato di sviluppare patologie cardiovascolari. Scopi di questo studio caso-controllo sono valutare il possibile ruolo dei polimorfismi Val66Met nel gene per il BDNF, HTTLPR nel gene per il trasportatore della serotonina e -1438 G/A nel promotore del gene per il recettore 2A della serotonina nello sviluppo della malattia coronarica (CAD), in pazienti con e senza depressione. I nostri dati suggeriscono un coinvolgimento del genotipo AA del BDNF nella patogenesi della CAD nelle donne e nella predisposizione alla CAD associata alla depressione. Nei soggetti con malattia coronarica abbiamo anche osservato un significativo incremento del genotipo LL del trasportatore della serotonina e una riduzione del genotipo SL rispetto ai controlli. Sebbene non sia stata trovata alcuna differenza per genotipo e frequenza allelica dei polimorfismi del gene -1438 G/A tra pazienti CAD e controlli, non possiamo escludere il possibile ruolo del recettore nella malattia coronarica.

Coronary artery disease and depression: Possible role of brain-derived neurotrophic factor and serotonin transporter gene polymorphisms

Cardiovascular disease and depression are two of the most common human health problems. Patients with depression have an increased risk of developing cardiovascular disease. The aims of the present case-control study were to investigate the possible role of BDNF Val66Met, 5-HTTLPR and -1438 G/A polymorphisms in the development of coronary artery disease (CAD), in patients with and without depression. Regarding BDNF, our data suggest an involvement of the AA genotype in the pathogenesis of CAD in females and in the predisposition to CAD associated with depression. In our CAD population we also observed a significant increase in the LL genotype and a decrease in the SL genotype with respect to the controls. Although no differences were found for genotype and allelic frequencies of the -1438 G/A polymorphism between the CAD patients and controls, we cannot exclude the possible role of this receptor in coronary artery disease.

Introduzione

Le malattie cardiovascolari (CVD) e la depressione sono due tra la più diffuse patologie a livello mondiale. I pazienti con depressione presentano un aumentato rischio di sviluppare patologia cardiovascolare e un rischio da 2 a 4 volte maggiore di morte dopo un evento cardiaco. Nonostante l'evidente legame epidemiologico tra patologia cardiaca e depressione, la correlazione non è ben nota. La depressione è associata a cambiamenti nello stato di salute dell'individuo che possono influenzare lo sviluppo e il decorso delle malattie cardiovascolari, tra cui una ridotta aderenza alla terapia consigliata, e la presenza di fattori di rischio cardiovascolare quali fumo ed ipertensione. Inoltre, la depressione è associata a modificazioni fisiologiche e patologiche, tra cui attivazione del sistema nervoso, disturbi del ritmo cardiaco, infiammazione multistrettuale, e ipercoagulabilità, che influenzano negativamente il sistema cardiovascolare [1].

La depressione e le malattie cardiovascolari sono disordini complessi che risentono di fattori genetici e ambientali. Studi precedenti hanno dimostrato che il brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gioca un ruolo critico sia nella regolazione dell'angiogenesi che nella risposta dell'organismo ad una lesione. Il BDNF è un membro della famiglia dei fattori di crescita neurotrofici che promuove la sopravvivenza, la differenziazione e il mantenimento dei neuroni del sistema nervoso periferico e centrale [2]. Nei pazienti con sindrome coronarica acuta (SCA), sono stati riscontrati ridotti livelli plasmatici di BDNF, ciò suggerirebbe un possibile coinvolgimento di questo fattore neurotrofico in tale patologia [3]. Un singolo polimorfismo nel gene del BDNF, determinato dalla sostituzione di una guanina con una adenina in posizione 196 della sequenza nucleotidica, causa una sostituzione da valina a metionina nel pre-dominio ed è risultato associato a disordini neuropsichiatrici come la malattia di Alzheimer, la malattia di Parkinson, la depressione e la schizofrenia [4-5]. Gli individui che presentano l'allele Met hanno un volume ippocampale ridotto e svolgono male compiti di memoria ippocampo-dipendente [6]. È stato inoltre evidenziato che la variante Met altera il traffico intracellulare e la secrezione attività-dipendente del BDNF nelle cellule neurosecretrici e nei neuroni [6-7].

Numerosi studi hanno suggerito la possibile implicazione del recettore 5-HT_{2A} (5-idrossitriptamina) della serotonina nella depressione [8]. La serotonina modula differenti funzioni cerebrali attraverso interazioni con diversi sottotipi del recettore ed è nota la sua partecipazione alla regolazione di sonno, appetito, dolore e infiammazione. La proteina G accoppiata al recettore 5-HT_{2A} della serotonina è essenzialmente conosciuta per il suo ruolo nella neurotrasmissione cerebrale, dove media un'ampia varietà di funzioni tra cui alcuni aspetti dell'apprendimento. Vi è inoltre una notevole espressione di questo recettore anche nei tessuti periferici, dove la sua importanza è in gran parte sconosciuta. Un recente studio ha rilevato che l'attivazione dei recettori 5-HT_{2A} nelle principali cellule muscolari lisce aortiche causa una potente inibizione dell'infiammazione mediata dal tumor necrosis factor (TNF)- α [9]. Le vie dell'infiammazione mediate dal TNF- α sono implicate in numerose patologie, che includono l'aterosclerosi, l'artrite reumatoide, la psoriasi, il diabete mellito tipo 2, la depressione, la schizofrenia e la malattia di Alzheimer.

Il complesso meccanismo della serotonina è sotto lo stretto controllo di una singola proteina, il trasportatore 5-HT (5-HTT), che, controllando il re-uptake del 5-HT dallo spazio extracellulare, regola la durata e la forza delle interazioni tra la serotonina e i suoi recettori. È stato osservato un polimorfismo a livello della 5' upstream region (5-HTTLPR) causato dall'inserzione/delezione di elementi ripetitivi. Nella maggior parte dei casi sono presenti da 14 (allele Short) o da 16 (allele Long) elementi ripetitivi. Nell'uomo è possibile trovare anche 18/20 elementi ripetitivi (allele XL) [10]. Un'analisi trascrizionale in vitro ha indicato che l'attività del trasportatore è regolata dalla presenza di questi elementi ripetitivi e determina differenze nell'efficacia del reuptake.

Scopo del lavoro

Lo scopo dello studio caso-controllo è investigare il possibile ruolo dei polimorfismi del BDNF Val66Met, 5-HTTLPR e -1438 G/A nello sviluppo della malattia coronarica (CAD) in pazienti con e senza depressione.

Materiali e metodi

Popolazione dello studio

La popolazione oggetto del nostro studio è costituita da 99 pazienti (87 uomini, 12 donne) italiani di razza Caucasica con malattia coronarica (CAD), reclutati tra i soggetti sottoposti ad angiografia coronarica presso la Divisione Cardiologica dell'Ospedale Universitario di Pavia. I pazienti CAD sono stati definiti dall'evidenza angiografica di stenosi $\geq 50\%$ del diametro in almeno una coronaria epicardica. Un totale di 143 donatori sani di sangue (49 uomini, 94 donne), assortiti per età, genere e origini geografiche, è stato utilizzato come controllo. Le frequenze genotipiche dei pazienti e dei controlli erano in equilibrio di Hardy-Weinberg. Il protocollo di studio è stato approvato dalla commissione etica della nostra Università. Dopo una completa spiegazione degli scopi e i dettagli del nostro studio, un consenso scritto è stato ottenuto da tutti i soggetti arruolati.

Misure della depressione

A tutti i pazienti CAD è stato somministrato il Beck Depression Inventory (BDI) [11], strumento largamente utilizzato per valutare la varietà dei sintomi della depressione, che è risultato capace di predire l'esito della malattia cardiovascolare in popolazione di pazienti cardiovascolari in numerosi studi. Sebbene la compilazione del BDI fornisca un range di punteggio compreso tra 0 e 48, una precedente ricerca ha suggerito che punteggi ≥ 17 indicano la presenza di depressione da moderata a severa. Noi abbiamo identificato 29 pazienti con elevato punteggio di BDI. Abbiamo inoltre confermato clinicamente la presenza di depressione in questi pazienti.

Analisi genetica

Il DNA genomico è stato estratto dal sangue trattato con EDTA utilizzando il DNA Blood Mini Kit (Qiagen). I polimorfismi nel BDNF e nel recettore della serotonina sono stati analizzati tramite PCR-RFLP, mentre il polimorfismo nel trasportatore della serotonina tramite la sola PCR. Per tutti i polimorfismi, le amplificazioni tramite PCR sono state eseguite in un volume totale di 25 μ l contenente 20 ng di DNA genomico 0.1 μ l di polimerasi Taq (0.02 U/ μ l), 1 μ l di ogni specifico primer forward e reverse (4 ng/ μ l), 2.5 μ l di tampone per PCR 10X, 0.75 μ l di $MgCl_2$ (1.5 mM), 2.5 μ l di dNTPs (2 mM ognuno) e 16.15 μ l di H_2O sterile. Il programma termico era costituito da una prima denaturazione di 10 min a 95°C, poi 35 cicli a 95°C per 30 sec, 60°C per 1 min, 72°C per 30 sec, e una fase di estensione finale a 72°C per 10 min. I segmenti amplificati sono stati digeriti utilizzando il PmII (New England Biolabs) per Val66Met e HpaII (Fermentas) per 5-HT_{2A} per 4 h a 37°C. I risultati della digestione enzimatica sono stati visualizzati tramite elettroforesi su gel di agarosio al 3% ed etidio bromuro. Per il polimorfismo 5-HTTLPR, il programma termico era costituito da una denaturazione iniziale di 10 min a 95°C, poi 35 cicli a 95°C per 30 sec, 60°C per 1 min, 72°C per 30 sec, e una estensione finale a 72°C per 10 min. Il segmento amplificato è stato analizzato su gel di agarosio al 3% e visualizzato con transilluminatore UV.

Analisi statistica

Il test del χ^2 è stato utilizzato per verificare se la frequenza allelica osservata concordava con quella attesa secondo l'equilibrio di Hardy-Weinberg. La distribuzione allelica e genomica è stata stimata tramite il χ^2 test e le differenze sono state considerate statisticamente significative con p-value <0.05. L'Odds ratio (OR) grezzo e corretto è stato riportato con il relativo intervallo di confidenza (CI) del 95% utilizzando analisi univariate.

Risultati

La distribuzione del polimorfismo Val66Met nella popolazione CAD è riportata in tabella 1. Nella nostra popolazione, le frequenze alleliche e genotipiche del polimorfismo Val66Met nel gene del BDNF erano simili nei pazienti con CAD e nei controlli sani. Suddividendo poi la popolazione in base al genere, non sono state trovate differenze statisticamente significative nella popolazione dei pazienti di sesso maschile rispetto ai soggetti maschi sani. Al contrario, nella popolazione femminile, la frequenza del genotipo omozigote AA (Met/Met) era significativamente più alta nelle pazienti (66.7%) comparata a quella nei controlli (54.2%) ($p < 0.0027$). Anche le frequenze alleliche sono apparse statisticamente differenti ($p < 0.00001$), e in particolare l'allele A codificante per la metionina nella sequenza del proBDNF era più frequente nelle pazienti (79.1%) rispetto alle donne sane (27.6%).

La distribuzione del polimorfismo Val66Met nel gene del BDNF nei pazienti CAD depressi e non depressi è riportata in tabella 2. L'analisi delle frequenze alleliche e genotipiche ha mostrato una differenza statisticamente significativa tra i genotipi GG e AA, mentre non sono state osservate differenze tra le frequenze degli eterozigoti AG. In particolare, la frequenza del genotipo AA era più elevata nei pazienti depressi (41.3%) rispetto ai pazienti non affetti da depressione (5.71%) ($p < 0.00001$), mentre il genotipo GG era meno frequente nei pazienti depressi (17.2%) rispetto ai pazienti non depressi (68.5%) ($p < 0.00001$). L'Odds ratio per la presenza di CAD associata alla depressione in soggetti che presentavano il genotipo omozigote AA era 11.65 (95% CI, 3.3-40.7). La distribuzione degli alleli era statisticamente significativa ($p < 0.00001$) tra i due gruppi; e in particolare, l'allele A (Met) aveva una più alta frequenza nei pazienti che mostravano sintomi tipici della depressione (62.1%) rispetto ai pazienti clinicamente privi di tali sintomi (18.6%).

Riguardo al polimorfismo 5-HTTLPR, la distribuzione nei pazienti CAD è riportata in tabella 3. La frequenza del genotipo eterozigote S/L era significativamente più bassa nei pazienti (39.4%) paragonata ai controlli (53.1%), e la frequenza del genotipo omozigote L/L era significativamente più elevata nei pazienti (45.5%) rispetto ai controlli (28.7%); mentre non abbiamo rilevato differenze significative per il genotipo S/S. Differenze statisticamente significative tra le frequenze degli alleli S e L sono emerse nei pazienti CAD se comparati ai controlli ($p = 0.0291$); e in particolare abbiamo osservato un incremento della frequenza dell'allele L nei pazienti con malattia coronarica (65.2%) rispetto ai controlli sani (55.2%). L'Odds ratio grezzo per la presenza di malattia coronarica nei soggetti con l'allele L era di 1.51 (95% CI, 1.04-2.2). Suddividendo la popolazione tra maschi e femmine, non sono state rinvenute differenze statisticamente significative per la popolazione femminile, mentre nella popolazione maschile il genotipo L/L era più frequente tra i soggetti CAD (46%) rispetto ai controlli sani (23%) (Tabella 4). Lo studio allelico e genotipico non ha rilevato dati statisticamente significativi nei pazienti CAD con e senza depressione. Quanto all'analisi univariata della frequenza genotipica e allelica per il polimorfismo -1438 G/A nel gene 5HTR_{2A}, non sono state evidenziate differenze significative dal punto di vista statistico tra i pazienti CAD e i soggetti sani. Inoltre, lo studio del polimorfismo non ha rilevato alcuna associazione nello studio del genere e nella comparazione delle frequenze di pazienti con e senza depressione.

Discussione

La malattia coronarica (CAD) è la principale causa di morte nel mondo. Sono noti numerosi fattori che incrementano il rischio per le malattie cardiovascolari, quali il fumo, l'ipertensione arteriosa, il diabete mellito, l'ipercolesterolemia e l'obesità [12]. Numerosi studi, inoltre, indicano che la depressione può avere effetti comportamentali e fisiopatologici sulla malattia coronarica. Un'abnorme funzione delle piastrine e una disfunzione endoteliale sono state identificate come possibili legami tra depressione e CAD. La malattia cardiovascolare e la depressione sono spesso delle condizioni coesistenti, ed è stato ampiamente dimostrato che entrambe queste patologie sono epidemiologicamente connesse. La presenza di depressione incrementa il rischio di eventi cardiovascolari e di morte, predice una scarsa aderenza al trattamento e più frequenti e precoci ricoveri ospedalieri [13].

Inoltre, anche livelli subclinici di depressione sono associati a modificazioni nell'attività del sistema nervoso ortosimpatico e parasimpatico e ad alterazioni nella risposta piastrinica [14].

Il BDNF è la neurotrofina più diffusa nel sistema nervoso centrale, soprattutto nell'ippocampo, nella neocorteccia e nell'ipotalamo [15-16]. Il BDNF è inoltre sintetizzato e rilasciato da popolazioni cellulari diverse dai neuroni; in particolare è presente nel torrente ematico e soprattutto nelle piastrine.

Nei pazienti con sindrome coronarica acuta (SCA), sono stati riscontrati ridotti livelli plasmatici di BDNF, il che suggerirebbe un possibile coinvolgimento di questo fattore neurotrofico in tali patologie [3]. Alcuni studi hanno dimostrato che il BDNF gioca un ruolo cruciale nella regolazione della risposta dell'organismo ad una lesione. La mancanza del BDNF determina una riduzione dell'adesione tra cellule endoteliali e la loro apoptosi, con conseguente sanguinamento nella parete ventricolare, una depressione della contrattilità cardiaca e una precoce morte postnatale [17]. Si è visto che il suo recettore è espresso nei vasi aterosclerotici, nelle cellule endoteliali e in quelle muscolari lisce, ciò a suggerire che il BDNF può influenzare la regolazione dello sviluppo vascolare. Il preciso ruolo del BDNF nella patogenesi della malattia coronarica non è chiaro ma sembra essere associato ad un'incrementata risposta infiammatoria dovuta a linfociti T attivati e macrofagi nelle arterie coronarie aterosclerotiche.

Le donne hanno tradizionalmente ricevuto meno attenzione rispetto all'uomo relativamente alla ricerca sulle patologie cardiache, nonostante le ben note differenze di genere abbiano indicato trattamenti relativamente meno aggressivi, una minore accuratezza dei test diagnostici, e una più alta mortalità post-infartuale tra le donne [18]. La frequenza di depressione tra le donne è superiore rispetto all'uomo [19], e può essere associata a sintomi clinici che alterano la diagnosi cardiaca e il suo trattamento.

Nel nostro studio, in merito al polimorfismo Val66Met, è emersa una differenza significativa tra le frequenze alleliche in pazienti donne con CAD rispetto alle donne sane: la frequenza dell'allele G, codificante per la valina, è ridotta nelle pazienti rispetto ai controlli; mentre la frequenza dell'allele A, che codifica per la metionina, è più elevata nelle pazienti CAD che nei controlli. Allo stesso modo esistono, nella nostra popolazione, differenze nelle frequenze dei genotipi GG e AA; la frequenza del genotipo GG (Val/Val) è più bassa nelle pazienti che nei controlli. Al contrario, la frequenza del genotipo AA (Met/Met) nelle pazienti è più elevata. Questa associazione potrebbe essere dovuta all'effetto trofico positivo esercitato dal BDNF sulle cellule dell'endotelio vascolare che, in combinazione con fattori ormonali, può fornire alle donne con livelli di BDNF ridotti, come risultato del genotipo AA, un rischio aumentato di sviluppare lesioni aterosclerotiche. In numerosi studi è stata riscontrata un'associazione tra il polimorfismo Val66Met e alcuni disordini neuropsichiatrici come la malattia di Alzheimer, la malattia di Parkinson, la schizofrenia e la depressione [4-5].

Nella nostra popolazione, divisa tra pazienti CAD depressi e non depressi, è risultata essere presente una maggior percentuale di soggetti con genotipo AA nel gruppo di pazienti depressi rispetto a quelli che non presentavano depressione e, al contrario, la frequenza del genotipo GG era inferiore nella popolazione di pazienti depressi. I nostri dati suggeriscono quindi un coinvolgimento del genotipo AA, connesso ad una ridotta secrezione di BDNF, nella patogenesi della malattia coronarica nelle donne e nella predisposizione alla CAD associata alla depressione. Inoltre, questo potrebbe suggerire che il genotipo GG possa essere protettivo nei confronti della malattia coronarica nella popolazione femminile e nei confronti della CAD associata alla depressione.

Evidenze suggeriscono che il BDNF sia in grado di aumentare la trasmissione serotoninergica. L'infusione diretta di BDNF nel cervello influenza la sopravvivenza e la funzione dei neuroni serotoninergici attraverso un incrementato rilascio di serotonina. Il meccanismo molecolare attraverso cui il BDNF modula il sistema serotoninergico non è ancora noto. Anche presumessimo che una deficienza di serotonina fosse specificamente legata alla depressione, i tentativi di connettere i livelli di serotonine alla depressione sono stati finora inconcludenti. La serotonina può comunque contribuire all'inizio della malattia coronarica attraverso meccanismi centrali e periferici. In periferia, la serotonina induce l'aggregazione piastrinica, e in presenza di danno endoteliale induce vasocostrizione e iperplasia delle cellule muscolari lisce delle arterie, condizioni che conducono alla formazioni di trombi. Gli effetti della serotonina sulle piastrine sono mediati dal recettore 5-HT_{2A} [20], e il reuptake della serotonina circolante nelle piastrine è mediato dal suo specifico trasportatore (5-HTT). Molti studi hanno mostrato che nei pazienti depressi è presente a livello piastrinico un incremento dei siti di legame per il 5-HT_{2A} e una riduzione della quantità di trasportatore, il che indica come i pazienti depressi siano particolarmente soggetti all'incremento della aggregazione piastrinica e alla vasocostrizione associate alla malattia coronarica.

Per quanto riguarda il polimorfismo 5-HTTLPR, nella nostra popolazione CAD abbiamo osservato un significativo incremento del genotipo LL e una riduzione del genotipo SL per quanto riguarda i controlli. Abbiamo inoltre riscontrato differenze statisticamente significative nella distribuzione allelica nei pazienti CAD rispetto ai soggetti sani: una maggiore frequenza dell'allele L, responsabile dell'aumentata efficienza della trascrizione, è stata rinvenuta nei pazienti CAD, mentre l'allele S era meno frequente. Questi risultati possono essere responsabili dell'aumentata capacità dell'uptake della serotonina osservato prevalentemente nei pazienti CAD. Anche se non è stata trovata alcuna differenza per la frequenza genotipica e allelica del polimorfismo -1438 G/A del gene per il recettore 2A tra pazienti CAD e controlli, non possiamo escludere il possibile ruolo del recettore in questa patologia. Sarebbero necessari studi che tipizzino i numerosi polimorfismi di questo gene per escludere un potenziale coinvolgimento nella predisposizione all'aterosclerosi coronarica.

In conclusione, abbiamo confermato la genesi multifattoriale dell'associazione CAD-depressione, identificando due polimorfismi in due geni coinvolti nella patogenesi di entrambe le patologie. Tuttavia questo è uno studio preliminare condotto in un gruppo di soggetti italiani di razza Caucasica, per cui obiettivo futuro è quello di incrementare il numero di soggetti, in particolare donne, per confermare l'importanza di questi polimorfismi nell'influenzare il rischio per CAD e depressione. Inoltre, tutti i polimorfismi considerati modificano le quantità di proteina secreta. Per questa ragione il nostro intento è misurare i livelli di BDNF e di serotonina nel siero, per identificare una possibile correlazione tra polimorfismo e proteina prodotta. Ulteriori studi tesi a tipizzare molteplici polimorfismi in questi e altri geni saranno richiesti per confermare o escludere il loro potenziale coinvolgimento nello sviluppo della malattia coronarica.

Tabelle e figure

Tabella 1. Distribuzione di alleli e genotipi Val66Met nel gene per il BDNF in donne CAD e controlli.

	Donne CAD (n=12)	Donne Controlli (n=94)	OR (95% CI)	P value
Genotipo				
<i>GG</i>	1	51	0.0766 (0.0096-0.6178)	0.00270
<i>AG</i>	3	34		0.44450
<i>AA</i>	8	9	18.8890 (4.7379-75.3057)	<0.00001
Allele				
<i>G</i>	5	136	0.1006 (0.0357-0.2834)	<0.00001
<i>A</i>	19	52	9.9385 (3.5280-27.9969)	<0.00001

Tabella 2. Distribuzione di alleli e genotipi Val66Met nel gene per il BDNF in pazienti CAD con e senza depressione.

	Depressi CAD (n=29)	Non depressi CAD (n=70)	OR (95% CI)	P value
Genotipo				
<i>GG</i>	5	48	0.0955 (0.0322-0.2833)	<0.00001
<i>AG</i>	12	18		0.12300
<i>AA</i>	12	4	11.6471 (3.334-40.6883)	<0.00001
Allele				
<i>G</i>	22	114	0.1394 (0.0706-0.2752)	<0.00001
<i>A</i>	36	26	7.1748 (3.6339-14.1662)	<0.00001

Tabella 3. Distribuzione di alleli e genotipi 5-HTTLPR nel gene per il trasportatore della serotonina in pazienti CAD e controlli.

	CAD (n=99)	Controlli (n=143)	OR (95% CI)	P value
Genotipo				
<i>SS</i>	15	26		0.5370
<i>SL</i>	39	76	0.5730 (0.3407-0.9639)	0.0350
<i>LL</i>	45	41	2.0732 (1.2123-3.5453)	0.0073
Allele				
<i>S</i>	69	128	0.6602 (0.4543-0.9596)	0.0291
<i>L</i>	129	158	1.5146 (1.0421-2.2012)	0.0291

Tabella 4. Distribuzione di alleli e genotipi 5-HTTLPR nel gene per il trasportatore della serotonina in uomini CAD e controlli.

	Uomini CAD (n=87)	Uomini Controlli (n=49)	OR (95% CI)	P value
Genotipo				
<i>SS</i>	14	10		0.5261
<i>SL</i>	33	25		0.1383
<i>LL</i>	40	14	2.1277 (1.0054-4.5026)	0.0464
Allele				
<i>S</i>	61	45	0.6358 (0.3838-1.0533)	0.0780
<i>L</i>	113	53	1.5728 (0.9494-2.6057)	0.0780

Bibliografia

1. Joynt KE, Whellan DJ and O'Connor CM. Depression and cardiovascular disease: mechanisms of interaction. *Biol Psychiatry* 2003;54:248-261.
2. Lewin GR, Berde YA. Physiology of the neurotrophins. *Annu Rev Neurosci* 1996;19:289-317.
3. Ejiri J, Inoue N, Kobayashi S et al. Possible role of brain-derived neurotrophic factor in the pathogenesis of coronary artery disease. *Circulation* 2005;112:2114-2120.
4. Murera MG, Yanb Q, Raisman-Vozaric R. Brain-derived neurotrophic factor in the control human brain, and in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Progress in Neurobiology*. 2001;63:71-124.
5. Angelucci F, Brenè S, Mathé AA. BDNF in schizophrenia, depression and corresponding animal models. *Molecular Psychiatry* 2005;10:345-352.
6. Egan MF, Kojima M, Callicott JH et al. The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell* 2003;112:257-269.
7. Chen ZY, Patel PD, Sant G et al. Variant brain-derived neurotrophic factor (BDNF) (Met66) alters the intracellular trafficking and activity-dependent secretion of wildtype BDNF in neurosecretory cells and cortical neurons. *J Neurosci* 2004;24:4401-4411.
8. Artigas F. Serotonin receptors: role in depression. *Actas Esp Psiquiatr* 2008;36:28-30.
9. Marek GJ. The selective 5-HT_{2A} receptor antagonist M100907 enhances antidepressant-like behavioral effects of the SSRI fluoxetine. *Neuropsychopharmacology* 2005;30:2205-2215.
10. Delbruck SJ, Wendel B, Grunewald I. A novel allelic variant of the human serotonin transporter gene regulatory polymorphism. *Cytogenet Cell Genet* 1997;79:214-220.
11. Lesch KP, Bengel D, Heils A et al. Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science* 1996;274:1527-1531.
12. Fuster V, Gotto AM, Libby P et al. 27th Bethesda Conference: matching the intensity of risk factor management with the hazard for coronary disease events. Task Force 1. Pathogenesis of coronary disease: the biologic role of risk factors. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:964-976.
13. Zigelstein RC, Bush DE, Fauerbach JA. Depression, adherence behavior, and coronary disease outcomes. *Arch Intern Med* 1998;158:808-809.
14. Schins A, Honig A, Crijns H et al. Increased coronary events in depressed cardiovascular patients: 5-HT_{2A} receptor as missing link? *Psychosom Med* 2003;65:729-737.
15. Castren E, Thoenen H, Lindholm D. Brain-derived neurotrophic factor messenger RNA is expressed in the septum, hypothalamus and in adrenergic brain stem nuclei of adult rat brain and is increased by osmotic stimulation in the paraventricular nucleus. *Neuroscience* 1995;64:71-80.
16. Fujimura H, Altar CA, Chen R et al. Brain-derived neurotrophic factor is stored in human platelets and released by agonist stimulation. *Thromb Haemost* 2002;87:728-734.
17. Erasmus RT. The brain and heart: dancing in unison? *Clin Chim Acta* 2009;400:1-2.
18. Krumholz HM, Douglas PS, Lauer MS et al. Selection of patients for coronary angiography and coronary revascularization early after myocardial infarction: is there evidence for a gender bias? *Ann Intern Med* 1992;116:785-790.
19. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: 4th edition, *American Psychological Association*, Washington DC, USA, 1994.
20. Nagatomo T, Rashid M, Abul Muntasir H et al. Functions of 5-HT_{2A} receptor and its antagonists in the cardiovascular system. *Pharmacol Ther* 2004;104:59-81.