

lek. med. Michał Nedoszytko

**Znaczenie prognostyczne polimorfizmu wybranych
genów w chorobie niedokrwiennej serca
na podstawie prospektywnej, dwuletniej obserwacji
pacjentów poddanych elektywnej koronarografii**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: Prof. dr hab. med. Andrzej Rynkiewicz

I Katedra i Klinika Kardiologii
Gdański Uniwersytet Medyczny



Gdańsk 2014

Serdecznie dziękuję Panu Profesorowi Andrzejowi Rynkiewiczowi, mojemu promotorowi i mentorowi - za niekończącą się cierpliwość, inspirację i wszechstronną pomoc w realizacji poniższej pracy.

Bardzo dziękuję za pomoc, mojej mamie, oraz ojcu, który jest i będzie dla mnie niedoścignionym wzorem i autorytetem.

Szczególne wdzięczny jestem mojej żonie, Marcie oraz dzieciom - Ani i Mateuszowi, za cierpliwość i zrozumienie - bez nich i ich wsparcia nie byłoby możliwe powstanie tej pracy.

1. Wstęp.....	1
1.1 Choroba wieńcowa	1
1.1.1 Choroba wieńcowa.....	1
1.1.2 Kwalifikacja do koronarografii.....	3
1.1.3 Koronarografia.....	4
1.1.4 Angioplastyka wieńcowa (PTCA).....	10
1.1.5 Przesłowanie tętnic wieńcowych (CABG).....	12
1.1.6 Genetyczne aspekty choroby wieńcowej.....	13
1.2 Polimorfizmy wybranych genów i ich rola w patogenezie choroby niedokrwiennej serca	16
1.2.1 Polimorfizm M235T genu angiotensynogenu (M235T AGT).....	16
1.2.2 Polimorfizm insercyjno/delecyjny genu enzymu konwertującego angiotensynę I (I/D ACE).....	18
1.2.3 Polimorfizm A1166C genu receptora dla angiotensyny II typu 1 (A1166C AT1R).....	19
1.2.4 Polimorfizm C344T genu syntazy aldosteronu (C344T CYP11B2).....	20
1.2.5 Polimorfizm T2238C genu przedsionkowego peptydu natriuretycznego (ScaI A2/A1 ANP)	22
1.2.6 Polimorfizm Leu33/Pro genu glikoproteiny płytkowej (PIA1/PIA2 GPIIa)	23
1.2.7 Polimorfizm G460W genu alfa adducyny (G460W ADD1).....	25
1.2.8 Polimorfizm C825T genu podjednostki beta-3 białka G (C825T GNB-3)	26
2. Cel badań i hipoteza badawcza.....	27
2.1 Cel badania	27
2.2 Hipoteza badawcza.....	28
2.3 Punkty końcowe/MACE	29
3. Materiał i metody	30
3.1 Grupa badana	30
3.2 Kryteria włączenia i wyłączenia	30
3.3 Dane kliniczne.....	31
3.4 Diagnostyka inwazyjna	32
5. Gensini Score.....	33
3.6 Analiza prospektywna.....	35
3.7 Izolacja materiału	35
3.8 Badania genetyczne.....	35
3.8.1 Genotypowanie (oznaczenia występowania polimorfizmów genetycznych)	35
3.8.2 Metoda – TaqMan.....	36

3.9 Analiza statystyczna uzyskanych wyników badań	37
3.9.1 Narzędzia statystyczne	37
3.9.2 Metody statystyczne	37
4. Wyniki	38
4.1 Dane podstawowe.....	38
4.1.1 Częstości występowania punktów końcowych.....	38
4.1.2 Częstość występowania punktów końcowych w zależności od obecności klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego	38
4.1.3 Wartości średnie skali punktowej Gensini Score w podgrupach pacjentów z incydentami sercowo-naczyniowymi.....	41
4.1.4. Częstości występowania genotypów wybranych wariantów polimorficznych w badanej populacji chorych	42
4.1.5 Analiza zgodności częstości występowania badanych polimorfizmów z prawem Hardy-Weinberga.....	48
4.2 Analiza związku występowania incydentów sercowo-naczyniowych z badanymi wariantami polimorficznymi genów	48
4.2.1 Wstęp.....	48
4.2.2 Polimorfizm M235T genu angiotensynogenu (M235T AGT).....	49
4.2.3 Polimorfizm insercyjno/delecyjny genu enzymu konwertującego angiotensynę I (I/D ACE).....	51
4.2.4 Polimorfizm A1166C genu receptora dla angiotensyny II typu 1 (A1166C AT1R).....	54
4.2.5 Polimorfizm C344T genu syntazy aldosteronu (C344T CYP11B2).....	55
4.2.6 Polimorfizm T2238C genu przedsionkowego peptydu natriuretycznego (Scal A2/A1 ANP)	57
4.2.7 Polimorfizm Leu33/Pro genu glikoproteiny płytkowej (PIA1/PIA2 GPIIb/IIIa).....	60
4.2.8 Polimorfizm G460W genu alfa adducyny (G460W ADD1).....	61
4.2.9 Polimorfizm C825T genu podjednostki beta-3 białka G (C825T GNB-3)	64
4.3 Analiza zależności zaawansowania choroby wieńcowej ocenianej w skali Gensini od wybranych wariantów polimorficznych genów	66
4.3.1 Wstęp.....	66
4.3.2 Polimorfizm M235T genu angiotensynogenu (M235T AGT).....	67
4.3.3 Polimorfizm insercyjno/delecyjny genu enzymu konwertującego angiotensynę I (I/D ACE).....	69
4.3.4 Polimorfizm A1166C genu receptora dla angiotensyny II typu 1 (A1166C AT1R).....	70
4.3.5 Polimorfizm C344T genu syntazy aldosteronu (C344T CYP11B2).....	71

4.3.6 Polimorfizm T2238C genu przedsionkowego peptydu natriuretycznego (Scal A2/A1 ANP)	73
4.3.7 Polimorfizm Leu33/Pro genu glikoproteiny płytkowej (PIA1/PIA2 GPIIa)	74
4.3.8 Polimorfizm G460W genu alfa adducyny (G460W ADD1).....	76
4.3.9 Polimorfizm C825T genu podjednostki beta-3 białka G (C825T GNB-3)	77
5.Dyskusja	79
5.1 Wprowadzenie	79
5.2 Częstość występowania punktów końcowych w badanej grupie w okresie obserwacji	80
5.3 Stopień zaawansowania choroby wieńcowej w badanej grupie.....	81
5.4 Polimorfizm M235T genu angiotensynogenu	82
5.5 Polimorfizm insercyjno/delecyjny genu enzymu konwertującego angiotensynę I (I/D ACE)	83
5.6 Polimorfizm A1166C genu receptora dla angiotensyny II typu 1 (A1166C AT1R) ...	85
5.7 Polimorfizm C344T genu syntazy aldosteronu (C344T CYP11B2)	86
5.8 Polimorfizm T2238C genu przedsionkowego peptydu natriuretycznego (Scal A2/A1 ANP)	87
5.9 Polimorfizm Leu33/Pro genu glikoproteiny płytkowej (PIA1/PIA2 GPIIa).....	89
5.10 Polimorfizm G460W genu alfa adducyny (G460W ADD1).....	90
5.11 Polimorfizm C825T genu podjednostki beta-3 białka G (C825T GNB-3)	91
6.Podsumowanie i wnioski.....	93
7.Streszczenie	95
Summary	98
Bibliografia.....	108

1. Wstęp

1.1 Choroba wieńcowa

1.1.1 Choroba wieńcowa

Choroba niedokrwienna serca (Ischaemic Heart Disease - IHD) jest schorzeniem charakteryzującym się niedostatecznym ukrwieniem (ischaemia) mięśnia sercowego w związku ze zmniejszoną podażą krwi. Niedokrwienie mięśnia sercowego cechuje się dysproporcją pomiędzy zapotrzebowaniem serca na tlen a jego podażą. Najczęstszą przyczyną choroby niedokrwiennej serca jest choroba naczyń wieńcowych (coronary heart disease - CAD), prowadząca do ich zwężenia lub zamknięcia. Tło choroby wieńcowej to przede wszystkim postępująca miażdżycza małych i dużych naczyń. Inne, rzadsze (niewieńcowe) przyczyny choroby niedokrwiennej to: zwężenie zastawki aortalnej (AS - aortic stenosis), stan zapalny lub kurcz naczyń wieńcowych, wrodzone wady naczyń wieńcowych, mostki mięśniowe, kardiomiopatia przerostowa i rozstrzeniowa, a także izolowany zator tętnic wieńcowych.

Nieleczona choroba wieńcowa w perspektywie czasu prowadzi do poważnych konsekwencji, przewlekłych - kardiomiopatii niedokrwiennej i w efekcie niewydolności serca, a także ostrych zespołów wieńcowych (zawał mięśnia sercowego - z uniesieniem odcinka ST - STEMI, bez uniesienia odcinka ST - NSTEMI oraz UA - dławica piersiowa niestabilna). Ostry zespół wieńcowy najczęściej rozwija się na podłożu destabilizacji blaszki miażdżycowej, której pęknięcie - a w konsekwencji odsłonięcie kolagenu i aktywatorów kaskady krzepnięcia, prowadzi do aktywacji procesów prokoagulacyjnych, formacji skrzepliny i krytycznego zwężenia lub całkowitego zamknięcia naczynia.

W kontekście epidemiologicznym, choroba wieńcowa jest jedną z głównych przyczyn umieralności w krajach wysoko rozwiniętych. Śmiertelność roczna związana z CAD w krajach Unii Europejskiej w 2010 roku wynosiła 76.2/100 tys. mieszkańców. Mimo obserwowanej w Polsce wyraźnej poprawy wskaźników śmiertelności (spadek zgonów związanych z CAD o 28% - z 124.5/100tys. w 2003 do 90.5/100 tys. w 2010r.)

CAD stanowi w dalszym ciągu istotny problem epidemiologiczny. W 2010 roku z powodu choroby wieńcowej w Polsce zmarło 45832 osób, co stanowi 26% wszystkich zgonów sercowo-naczyniowych i 12% wszystkich zgonów[1].

W 2010 roku w Polsce notowano 111 838 ostrych zespołów wieńcowych (2916/mln. mieszkańców) z czego 33% stanowiły zawały STEMI a pozostałe 77% NSTEMI i dławica piersiowa niestabilna. [2]

Najważniejszymi czynnikami ryzyka choroby wieńcowej są: zaburzenia lipidowe, palenie tytoniu, nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, nieumiarkowane spożywanie alkoholu, niska aktywność fizyczna, nadwaga i otyłość, płeć, wiek, dodatni wywiad rodzinny w kierunku chorób sercowo-naczyniowych oraz czynniki psychologiczne

Dodatkowo, w ostatnich latach wytypowano kilka nowych czynników ryzyka, które potencjalnie mogą mieć istotne znaczenie, zwłaszcza u chorych obciążonych dużym ryzykiem sercowo-naczyniowym. Takimi czynnikami ryzyka są m.in. lipoproteina (a), fibrynogen, molekuły adhezyjne, homocysteina, niektóre polimorfizmy genetyczne cząsteczek zaangażowanych w procesy miażdżycowe i zakrzepowe.

Dzięki ustaleniu wieloczynnikowej natury choroby wieńcowej i poznaniu głównych czynników ryzyka, udało się najpierw powstrzymać wzrost umieralności z powodu CAD, a następnie doprowadzić do stopniowego jej zmniejszania. W dalszym ciągu jednak niewiele wiemy na temat podłoża genetycznego choroby wieńcowej. Identyfikując obciążający wywiad rodzinny jako jeden z głównych czynników ryzyka doceniamy istotność warunkowania genetycznego, niemniej brak obecnie zindywidualizowanego, z uwzględnieniem profilu genetycznego, podejścia do terapii i prewencji pierwotnej choroby wieńcowej. Najważniejszym aspektem prewencji jest wczesna identyfikacja i poszerzenie diagnostyki pacjentów ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia chorób układu sercowo-naczyniowego.

W diagnostyce choroby wieńcowej posługujemy się oprócz badania podmiotowego i przedmiotowego badaniami dodatkowymi: obrazowymi i nieobrazowymi.

Do nieobrazowych zaliczamy przede wszystkim spoczynkowe EKG, wysiłkowy test elektrokardiograficzny oraz badania (lipidogram, poziomy aktywności izoenzymów sercowych).

W obrazowaniu mięśnia sercowego aktualnie najważniejszą rolę odgrywa przekłatkowe badanie echokardiograficzne (TTE - Trans-Thoracic Echocardiography).

W badaniach obrazowych naczyń wieńcowych największą wartość diagnostyczną ma klasyczne, inwazyjne badanie angiograficzne, nazywane inaczej koronarografią, niekiedy dodatkowo poszerzone o ultrasonografię wewnątrznacyniową (IVUS), optyczną tomografię koherencyjną (OCT) lub pomiar FFR (fractional flow reserve) . Dodatkowo wraz z rozwojem technologii coraz częściej stosuje się tomografię komputerową serca i naczyń wieńcowych (Angio-CT), a także czynnościowy rezonans magnetyczny (fMRI) a także pozytonową tomografię emisyjną (PET).

1.1.2 Kwalifikacja do koronarografii

Zgodnie z obecnymi wytycznymi Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (ESC) wskazaniami do koronarografii są:

- Ostre zespoły wieńcowe (STEMI, NSTEMI, dławica niestabilna)
- Stabilna choroba wieńcowa
- Kwalifikacja do wymiany zastawek serca
- Kwalifikacja do dużych zabiegów operacyjnych
- Niewydolność serca o nieznannej etiologii
- Kwalifikacja do implantacji ICD/CRT

Wskazania do koronarografii w stabilnej chorobie wieńcowej to:

- Ciężka stabilna dławica (klasa CCS III lub więcej) z wysokim prawdopodobieństwem choroby przed testem, szczególnie jeśli objawy niewystarczająco reagują na leczenie farmakologiczne (Klasa I)
- Osoby po zatrzymaniu krążenia (Klasa I)
- Chorzy z poważnymi arytmiami komorowymi (Klasa I)
- Chorzy uprzednio leczeni za pomocą rewaskularyzacji mięśnia sercowego (PCI, CABG), u których nastąpił wczesny powrót umiarkowanej lub ciężkiej dławicy piersiowej (Klasa I)
- Chorzy z niejednoznacznym rozpoznaniem w badaniach nieinwazyjnych lub ze sprzecznymi wynikami różnych badań nieinwazyjnych, mający umiarkowane lub wysokie ryzyko choroby wieńcowej (Klasa IIa)
- Chorzy z wysokim ryzykiem restenozy po PCI, jeśli interwencja dotyczy miejsca (*segmentu naczynia - przyp. aut.*) o dużym znaczeniu prognostycznym (Klasa IIa)

Każda kwalifikacja do koronarografii powinna być poprzedzona panelem pomocniczych badań nieinwazyjnych (badania laboratoryjne, elektrokardiograficzna lub echokardiograficzna próba wysiłkowa), lub ewentualnie innymi badaniami obrazowymi. [3]-[6].

1.1.3 Koronarografia

Koronarografia jest badaniem inwazyjnym polegającym na ocenie wizualnej naczyń wieńcowych z wykorzystaniem promieniowania X, kontrastu naczyniowego oraz cewników, którymi dostarcza się kontrast do ich ujścia.

Klasyczna angiografia, znana jest od roku 1927 i była po raz pierwszy zastosowana do uwidocznienia naczyń mózgowych[7].

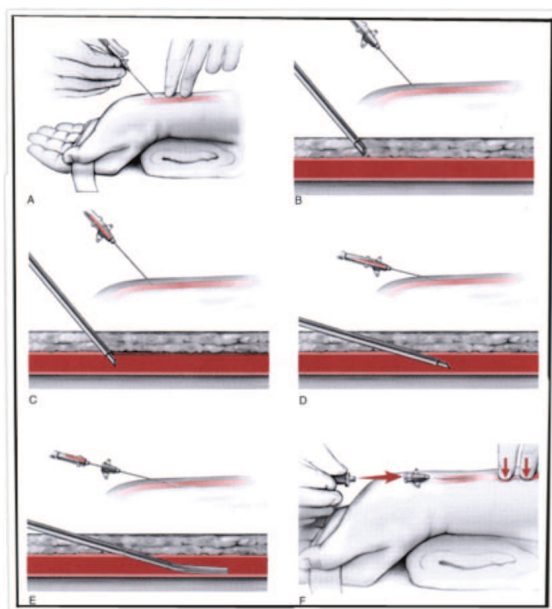
W 1960 roku F. Mason Sones, kardiolog dziecięcy z Cleveland Clinic, przypadkowo wstrzyknął kontrast naczyniowy do tętnicy wieńcowej, zamiast do lewej

komory. Mimo nagłego zatrzymania krążenia, które wystąpiło u pacjenta, Sonés i Shirey kontynuowali prace nad opracowaniem procedury i to im przypisuje się wdrożenie koronarografii .



Fotografia 1. Pracownia Kardiologii inwazyjnej (cathlab).

Badanie koronarograficzne wykonywane jest w specjalnie przygotowanej pracowni naczyniowej (cathlab) i rozpoczyna się od uzyskania dostępu tętniczego poprzez nakłucie obwodowej tętnicy (najczęściej udowej lub promieniowej) zmodyfikowaną techniką Seldingera [8]; po uzyskaniu wypływu krwi z tętnicy umieszcza się przez igłę cienki przewodnik, służący jako szyna do wprowadzenia pochewki naczyniowej.



Rysunek 2. Zmodyfikowana technika Seldingera



Fotografia 3. Przygotowanie do koronarografii z dostępu od tętnicy promieniowej prawej



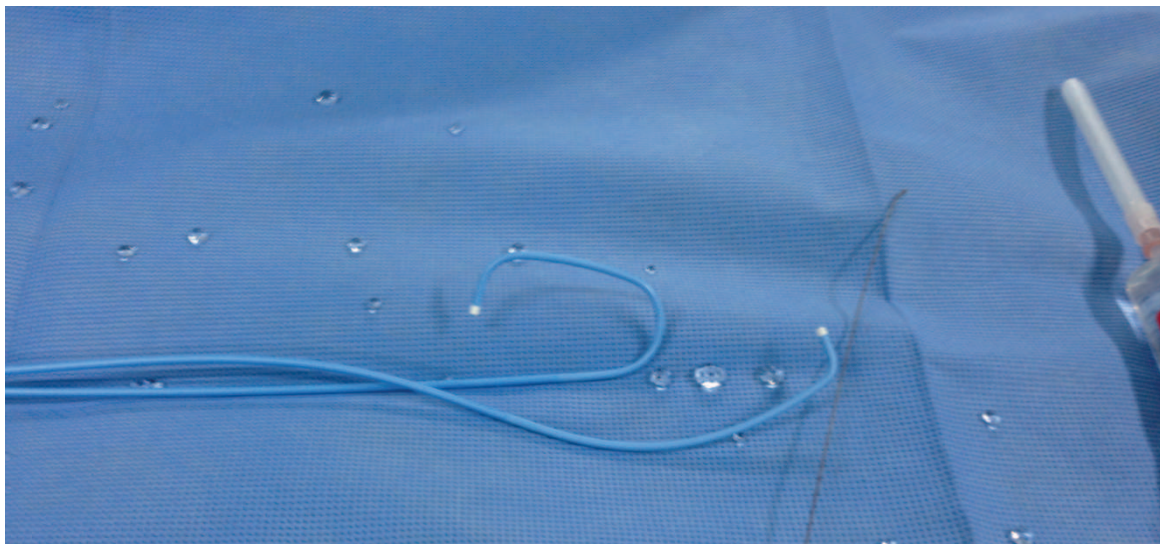
Fotografia 4. Wypływ tętniczy po nakłuciu tętnicy promieniowej prawej metodą Seldingera



Fotografia 5. Port tętniczy z zastawką hemostatyczną w tętnicy promieniowej prawej (producent: Balton).

Umieszczona w tętnicy pochwka (koszulka naczyniowa) z zastawką hemostatyczną najczęściej jest rozmiaru 6F - French = 2mm.

Wykorzystując odpowiednie cewniki naczyniowe lekarz diagnosta umieszcza je w okolicy ujścia tętnic wieńcowych, aby zapewnić dostarczenie kontrastu do ostium naczynia. Następnie stosuje się jednoczasową akwizycję obrazu fluoroskopowego podczas podania kontrastu. Obserwując wypełnienie naczyń wieńcowych oraz napływ do obwodu naczynia dokonuje się interpretacji jakościowej i ilościowej zmian w naczyniach wieńcowych.



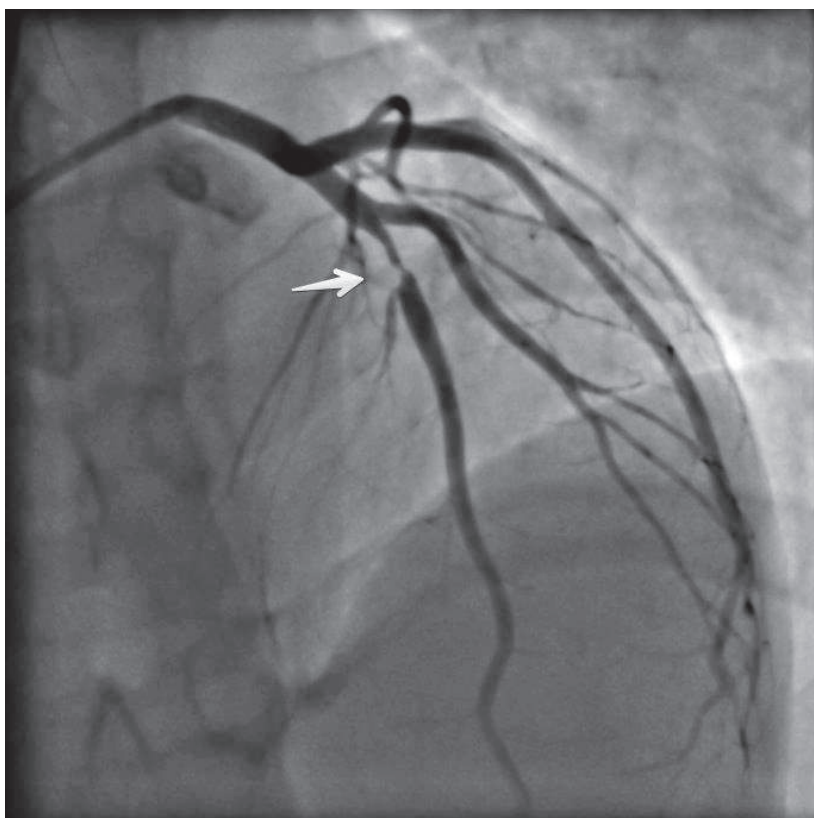
Fotografia 6. Cewniki diagnostyczne do badania tętnic wieńcowych (JL4 6F, JR4 6F, producent: Medtronic)



Fotografia 7. Lekarz hemodynamista w trakcie badania angiograficznego (za zgodą: dr n. med. Radosław Targoński, kierownik pracowni hemodynamicznej, Pomorskie Centra Kardiologiczne, Wejherowo)



Fotografia 8. Prawa tętnica wieńcowa uwidoczniiona w trakcie koronarografii (projekcja LAO 30, CRAN 0) – obraz prawidłowy



Fotografia 9. Lewa tętnica wieńcowa uwidoczniiono w trakcie koronarografii (projekcja LAO 0, CRAN 30) – 95% przewężenie w odcinku proksymalnym (strzałka)

W opisie badania określa się dokładną lokalizację zwężenia (lub zwężeń), jego wielkość wyrażoną w procentach, charakter zmiany, oraz napływ do obwodu naczynia (TIMI).

Istnieją różne skale służące całościowej ocenie zaawansowania zmian w naczyniach wieńcowych - obecnie najbardziej popularną wśród kardiologów inwazyjnych jest skala SYNTAX[9], niemniej w piśmiennictwie, bardzo często wykorzystywana jest również skala liczbowa Gensini[10].

Interpretacja i opis badania naczyniowego jest podstawą do dalszej kwalifikacji pacjenta i podjęcia decyzji o wyborze strategii leczenia - zachowawczej lub inwazyjnej.

Koronarografia jest badaniem powszechnym, w 2010 roku wykonano w Polsce 197,684 angiograficznych badań wieńcowych, czyli 5153/1 mln mieszkańców.

1.1.4 Angioplastyka wieńcowa (PTCA)

Zabieg angioplastyki wieńcowej polega na wykorzystaniu dostępu naczyniowego do udroźnienia lub poprawy napływu do obwodu naczynia wieńcowego. Zabieg ten wykonuje się wprowadzając poprzez cewnik prowadzący umieszczony selektywnie w ujściu tętnicy wieńcowej drugi cewnik - zakończony balonem lub stentem - w miejsce zwężenia naczynia wieńcowego, inflacji cewnika balonowego (lub cewnika ze stentem) i poszerzeniu zmiany, a następnie usunięciu całego zestawu, po wcześniejszej deflacji (zapadnięciu) cewnika balonowego. W pionierskich pracach, opublikowanych w latach 70-tych ubiegłego stulecia wykazano, że zabieg ten jest w stanie skutecznie zwiększyć światło naczynia, zmniejszyć dolegliwości chorego oraz wyeliminować obiektywne i subiektywne objawy niedokrwienia miokardium. Powyższy zabieg wykonuje się z dostępu przez nakłucie obwodowej tętnicy (najczęściej t. promieniowa lub udowa) zazwyczaj bezpośrednio po badaniu koronarograficznym.[11]

Pierwszy zabieg przezskórnej, balonowej angioplastyki wieńcowej został wykonany w roku 1977 przez Andreasa Rolanda Grüntziga. Szwajcarski kardiolog z powodzeniem poszerzył specjalnym, wykonanym własnoręcznie cewnikiem balonowym 80% zwężenie w gałęzi przedniej zstępującej u pacjenta z dławicą

piersiową. Bezpośredni efekt zabiegu był wyjątkowo dobry, mimo pionierskich materiałów i metod zastosowanych w procedurze. Pacjent nie prezentował dolegliwości dławicowych w okresie follow-up, a wykonana 10 lat później kontrola wykazała jedynie 10% restenozę naczynia.[12] Metoda ta obecnie znana jest pod historyczną nazwą POBA (Plain Old Balloon Angioplasty). Doskonałe wyniki leczenia kolejnych pacjentów przyczyniły się do szybkiej popularyzacji i generalnej akceptacji tej metody leczenia. W latach 90-tych ubiegłego wieku technika angioplastyki naczyniowej stała się częściej stosowaną metodą leczenia zwężeń naczyń wieńcowych niż metoda kardiochirurgiczna - CABG (Coronary Artery Bypass Graft). W roku 1986 Puel i Sigwart zastosowali po raz pierwszy metalową protezę naczyniową wszczepioną przy pomocy cewnika balonowego - stent. Wykonane w latach 90 badania kliniczne potwierdziły przewagę wykorzystania stentów naczyniowych w porównaniu do POBA.[13] Do roku 1999 stenty metalowe były stosowane w 84% wszystkich interwencji wieńcowych. Mimo doskonałej skuteczności, użycie stentów metalowych obarczone jest ryzykiem późnych i wczesnych powikłań - do wczesnych zaliczamy zakrzepicę w stencie, a do późnych - restenozę w stencie (ISR - In-stent restenosis) związaną z lokalną reakcją naczynia na ciało obce i przerostem tzw. *neointimy*.

W roku 2002 do użytku dopuszczona została kolejna generacja stentów naczyniowych - Drug Eluting Stents (DES) - stenty uwalniające leki antymitotyczne/antyproliferacyjne (sirolimus, ewerolimus, paklitaksel). Zastosowanie DES wiąże się z mniejszym odsetkiem restenoz - stenty DES są również wskazane w leczeniu restenoz po BMS (Bare Metal Stent - klasyczny stent metalowy).[14]

Obecnie w końcowych etapach badań klinicznych znajduje się kolejna generacja stentów naczyniowych - BVS (Bioabsorbable Vascular Scaffold) - urządzenia łączące w sobie zalety stentu DES oraz pełną bioresorbowalność rozłożoną w czasie.[15]

Zaletami zabiegów angioplastyki wieńcowej są: niska śmiertelność, mała częstość powikłań, a także możliwość wielokrotnego powtarzania zabiegu w razie konieczności. Angioplastyka nie wymaga długiego okresu hospitalizacji i umożliwia szybki powrót do standardowej aktywności życiowej. Zabiegi wykonywane w trybie planowym często wymagają maksymalnie jednodniowego pobytu w szpitalu.

Do ograniczeń metody należą: ryzyko ostrego zamknięcia naczynia i zawału serca oraz ryzyko nawrotu zwężenia w poszerzanym miejscu – tzw. restenozy. Wprowadzenie do

praktyki klinicznej stentów wieńcowych, większe doświadczenie operatorów oraz zastosowanie nowoczesnych leków przeciwplatek znacznie ograniczyło ilość ostrych zamknięć tętnic wieńcowych, a co za tym idzie powikłań okołozabiegowych, oraz konieczności wykonywania ratunkowego CABG. Zastosowanie nowoczesnych stentów (DES i BVS) znacząco obniża ilość wczesnych i późnych powikłań po zabiegach angioplastyki wieńcowej.

O rozpowszechnieniu metody może świadczyć jej skala - w Polsce w 2010 roku wykonano 110 751 koronarografii (2887/1 mln mieszkańców) - zabieg ten wykonywany był bezpośrednio po ponad 50% angiograficznych badaniach wieńcowych [2].

1.1.5 Przesłowanie tętnic wieńcowych (CABG)

Zabieg chirurgicznego przesłowania tętnic wieńcowych (CABG - Coronary Artery Bypass Graft) został wykonany po raz pierwszy w 1964 przez amerykańskich kardiochirurgów, Garreta, Dennisa i DeBakeya. Metoda była udoskonalona przez Favaloro i Johnsona.

Tylko w USA w ciągu roku operację CABG przechodzi ok 250 tys. pacjentów. Mimo, że obserwuje się spadek wykonywanych operacji, na rzecz kardiologicznych interwencji wieńcowych, w dalszym ciągu w Polsce wykonuje się ok 15 tys. zabiegów rocznie. Zabieg przesłowania naczyń wieńcowych polega na wszczepieniu bypassu żylnego lub tętniczego omijającego miejsce lub miejsca zwężenia naczyń wieńcowych. Stosowane są autologiczne przeszła żylna (najczęściej pobierane z żyły odpiszczelowej) lub tętnicze (najczęściej tętnica piersiowa wewnętrzna - LIMA - Left Internal Mammary Artery). Efektem ich wszczepienia jest przywrócenie prawidłowego napływu do dystalnych odcinków naczyń. Operacja niekiedy jest wykonywana w krążeniu pozaustrojowym, zazwyczaj z dostępu przez pośrodkową torakotomię.

W obecnie stosowanych modyfikacjach wykonuje się operację OP CAB (Off-Pump Coronary Artery Bypass), dzięki zastosowaniu specjalnych technik stabilizujących naprawiane naczynie nie ma konieczności stosowania krążenia pozaustrojowego. W porównaniu z tradycyjnym zabiegiem, obserwuje się porównywalne rezultaty

rewaskularyzacji, przy mniejszej utracie krwi a także mniejszym uszkodzeniu mięśnia sercowego, i redukcji powikłań związanych z krążeniem pozaustrojowym i dłuższym czasem mechanicznej hospitalizacji i wentylacji. Minimally Invasive Direct CABG (MIDCAB) polega na zastosowaniu dostępu przez lewostronną ograniczoną torakotomię.

Ostateczny rezultat CABG zależy przede wszystkim od drożności graftów w obserwacji długotrwałej.

Ze względu na coraz szersze zastosowanie PCI pacjenci będący kandydatami do CABG są starsi i z reguły bardziej obciążeni wysokim ryzykiem sercowo-naczyniowym; nierzadko zdyskwalifikowani z leczenia inwazyjnego, lub po interwencjach wieńcowych. Śmiertelność okołoperacyjna w CABG szacowana jest na ok 3%, a ok 90% chorych przeżywa 5 lat. CABG cechuje się bardzo wysoką skutecznością, jeśli chodzi o zmniejszenie dolegliwości stenokardialnych a także ogólną poprawę jakości życia pacjentów. W ciągu 5 lat od operacji 80% pacjentów pozostaje bez dolegliwości dławicowych. Po 10 i 15 latach ten odsetek kształtuje się na poziomie odpowiednio 64% oraz 15%.

1.1.6 Genetyczne aspekty choroby wieńcowej

Udział czynników genetycznych w patogenezie choroby wieńcowej serca jest od dłuższego czasu tematem licznych badań. Wyniki przeprowadzonych analiz wskazują na wieloczynnikowy model dziedziczenia choroby, w którym odgrywa rolę współdziałanie wielu nieallelicznych genów, czynniki epigenetyczne i działanie czynników środowiskowych. [16]-[18]

Warianty polimorficzne genów, takie jak substytucje pojedynczych nukleotydów (Single Nucleotide Polymorphism – SNP), jedno- lub kilkonukleotydowe delecje, duplikacje i insercje w zależności od miejsca występowania w strukturze genu mogą modyfikować procesy transkrypcji i syntezy białek. Warianty promotorów genów poprzez zmianę miejsc wiązania czynników transkrypcyjnych mogą wpływać na obniżenie lub podwyższenie transkrypcji genu. Zmiany w sekwencjach kodujących genu (mutacje nonsensowne lub zmiany sensu) mogą prowadzić do powstawania białka o osłabionej funkcji lub białka nieprawidłowego, pozbawionego funkcji enzymatycznej lub regulatorowej. Warianty polimorficzne intronów mogą zaburzać

procesy regulatorowe transkrypcji poprzez wpływ na funkcję czynników wzmacniających (enhancerów) lub proces składania m-RNA.

Poszukiwanie genów podatności do wystąpienia choroby niedokrwiennej serca (CAD) opiera się współcześnie na kilku podstawowych technikach molekularnych. Zaliczamy do nich analizę sprzężeń choroby z mikrosatelitarnym DNA, badanie asocjacji choroby ze znanymi polimorfizmami/mutacjami genów kandydatów oraz metoda badania asocjacji genomowych, oceniająca związek choroby z wieloma znanymi polimorfizmami genetycznymi (technika GWAS - genome-wide association studies). Wiele nadziei wiąże się z nowymi technikami badawczymi takimi jak analiza profilu ekspresji genów z zastosowaniem mikromacierzy (aCGH), a także badanie roli mechanizmów epigenetycznej regulacji ekspresji genów (metylacja DNA, modyfikacja histonów i chromatyny) i mikro RNA (mi-RNA) w patogenezie choroby. [19]-[22]

Wiele wariantów polimorficznych genów może być odpowiedzialnych za zwiększenie ryzyka rozwoju CAD na skutek ich wpływu na miażdżycę naczyń wieńcowych, atero- i trombogenezę, a także fibrynolizę. Geny, które mają potencjalnie wpływ na ryzyko wystąpienia danej jednostki chorobowej, są nazywane genami kandydatami lub genami podatności do wystąpienia choroby. W patogenezie choroby niedokrwiennej serca genów kandydatów poszukuje się najczęściej wśród genów związanych z metabolizmem lipidów, układem krzepnięcia i fibrynolizy, układem renina-angiotensyna-aldosteron, czynnikami prozapalnymi, substancjami wazoaktywnymi, proliferacją komórek mięśni gładkich itp.

Wieloczynnikowe genetyczne tło choroby niedokrwiennej serca sprawia wiele trudności diagnostycznych. Ujawnienie się choroby, jej obraz kliniczny oraz przebieg są związane zarówno z czynnikami genetycznymi, jak i środowiskowymi, które na drodze epigenetycznej mogą modyfikować ekspresję funkcje genów.[23]

Wystąpienie choroby wieńcowej i jej obraz kliniczny, jest związany najczęściej z dziedziczeniem i interakcją wielu czynników genetycznych i środowiskowych. Ponadto, dziedziczenie choroby niedokrwiennej serca ma charakter heterogenny (heterogenia alleliczna i niealleliczna), co oznacza, że u różnych osób zespół odmiennych czynników genetycznych może wywoływać tę samą chorobę.

Ze względu na złożony charakter ChNS trudno jest o jednoznaczną identyfikację genów odpowiedzialnych za jej wystąpienie. We współczesnych, intensywnie prowadzonych badaniach, poszukuje się markerów genetycznych choroby, czyli mutacji i wariantów polimorficznych genów, których produkty białkowe biorą udział w zaburzeniach patofizjologicznych istotnych dla rozwoju, przebiegu i powikłań choroby niedokrwiennej serca. Najczęściej prowadzone są badania populacyjne, w których porównuje się częstość występowania danego markera genetycznego w grupie osób chorych oraz w grupie kontrolnej lub w populacji osób chorych różniących się cechami klinicznymi. [24]

Efektem tych badań było zidentyfikowanie wielu genów kandydatów, wpływających na ryzyko wystąpienia choroby. Ze względu na zaangażowanie, kodowanych przez nie czynników białkowych w różne procesy fizjologiczne można je podzielić na kilka grup. Są to:

- geny kodujące białka regulujące procesy metabolizmu lipidów (geny apolipoproteiny, enzymy lipolityczne, receptory lipoprotein itp.)
- geny kodujące czynniki krzepnięcia i trombolizy (fibrynogen, czynniki krzepnięcia, inhibitor aktywatora plazminogenu-1 PAI-1 itp.)
- geny kodujące białka uczestniczące w procesach zapalnych (geny cytokin, chemokin i czynników wzrostu)
- geny kodujące białka układu RAA (renina-angiotensyna-aldosteron), takie jak angiotensynogen, ACE, receptor AT1, syntaza aldosteronu
- geny kodujące glikoproteiny płytkowe (GPIIb/IIIa, GPIa/IIa)
- geny kodujące czynniki wazoaktywne: ANP, BNP, CNP
- geny kodujące czynniki adhezyjne i migracyjne dla monocytów i makrofagów
- geny kodujące czynniki proliferacji komórek mięśni gładkich naczyń a także wiele innych genów których produkty białkowe powiązane są z procesami które pośrednio lub bezpośrednio mają związek z etiopatologią miażdżycy i jej powikłaniami.

Badania nad genetycznym uwarunkowaniem choroby niedokrwiennej serca i ich wartością prognostyczną mogą przyczynić się do zwiększenia skuteczności prewencji oraz potencjalnie - indywidualizacji farmakoterapii na podstawie wcześniejszej analizy genotypu pacjenta.

1.2 Polimorfizmy wybranych genów i ich rola w patogenezie choroby niedokrwiennej serca

Poniżej przedstawiono charakterystykę wybranych genów oraz ich wariantów polimorficznych, których analiza była przedmiotem niniejszej pracy.

1.2.1 Polimorfizm M235T genu angiotensynogenu (M235T AGT)

Angiotensynogen jest polipeptydem syntetyzowanym w wątrobie. Przekształcony przez reninę w angiotensynę I, która z kolei przy udziale ACE (Angiotensin Converting Enzyme - enzym konwertujący angiotensynę) jest konwertowana w aktywną angiotensynę II, pełni elementarną rolę w układzie renina-angiotensyna-aldosteron regulującym ciśnienie tętnicze oraz równowagę elektrolitową osocza.

Gen AGT ma 5 egzonów i jego locus znajduje się na ramieniu długim chromosomu 1 w regionie wyznaczonym zakresem prążków q42-q43. Opisane do tej pory polimorfizmy dotyczą sekwencji promotora i sekwencji kodujących genu.

Polimorfizm *M235T* (rs699 G/A), dotyczy sekwencji kodującej i należy do tzw. mutacji zmiany sensu. Polega ona na zamianie w pozycji 235 łańcucha białkowego AGT metioniny na treoninę. [25], [26]

Polimorfizm *M235T* genu angiotensynogenu wiązany jest z różnymi stężeniami angiotensynogenu w osoczu. Większa ilość angiotensynogenu może teoretycznie mieć wpływ na funkcjonowanie układu sercowo-naczyniowego oraz na stan serca i krążenia wieńcowego. Sugeruje się związek nosicielstwa dwóch alleli *T* (homozygoty TT) tego genu z wyższymi od 15 do 40% poziomami angiotensynogenu w osoczu od homozygot

MM. Opublikowane wyniki badań wskazują, że allel T jest wiązany z występowaniem samoistnego nadciśnienia tętniczego, przerostem lewej komory, większym zaawansowaniem miażdżycy tętnic wieńcowych a także częstszym występowaniem ostrych zespołów wieńcowych, w tym zawału serca [27]. Dodatkowo przypuszcza się, że nosicielstwo allela T jest związane z większym zaawansowaniem miażdżycy (definiowanym przez Gensini Score) i prawie dwukrotnie większym ryzykiem wystąpienia choroby wieńcowej. [28]. Wykonane w 2003 r. badanie polskiej populacji wykazało istotny związek allela T z częstszym występowaniem choroby wieńcowej a także zawałem mięśnia sercowego u palaczy papierosów [29].

Postuluje się również związek nosicielstwa allela T z nadwagą [30] oraz ze zwiększoną sztywnością tętnic u chorych z nadciśnieniem tętniczym [31]. W niektórych badaniach sugeruje się związek odpowiedzi na leczenie farmakologiczne choroby wieńcowej z polimorfizmem *M235T* angiotensynogenu. W badaniu SILVHIA (Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol) nosiciele allela T odnosili większe korzyści ze stosowania beta-blokerów jeśli chodzi o obniżenie ciśnienia tętniczego. Dodatkowo stwierdzono związek allela T z częstszym występowaniem nefropatii cukrzycowej [32].

Mimo wielu obserwacji, że opisywany polimorfizm może mieć związek z chorobami układu sercowo-naczyniowego, uzyskane do tej pory wyniki badań są niejednoznaczne. W 2013 zespół kierowany przez Liang'a wykonał dużą metaanalizę 38 opublikowanych wyników badań do których włączono w sumie 17304 pacjentów. Potwierdzono jedynie związek polimorfizmu *M235T* z zawałem mięśnia sercowego i udarem mózgu w populacji azjatyckiej. W innych analizowanych populacjach (w tym kaukaskiej) nie udało się potwierdzić tej zależności [33]. Kolejna duża metaanaliza opublikowanych wyników badań, w których skupiono się na wpływie polimorfizmu *M235T* *AGT* na ostre zespoły wieńcowe (grupa 4606 pacjentów z zawałem serca) również nie potwierdziła związku tego polimorfizmu w żadnej z badanych populacji. [34]. Obecnie postuluje się, że należy wziąć pod uwagę również wpływ czynników środowiskowych w powiązaniu z w/w polimorfizmem lub dokonywać równoległej analizy polimorfizmu *M235T* *AGT* z innymi polimorfizmami genów-kandydatów.

1.2.2 Polimorfizm insercyjno/delecyjny genu enzymu konwertującego angiotensynę I (I/D ACE)

Enzym konwertujący angiotensynę jest peptydazą odpowiedzialną za konwersję angiotensyny I do aktywnej angiotensyny II. ATII działa silnie wazokonstrykcyjnie, wpływa stymulująco na proliferację komórek mięśni gładkich naczyń a także jest czynnikiem protrombotycznym. Dodatkowo wykazuje działanie inotropowe dodatnie na mięsień sercowy, antydiuretyczne - poprzez zwiększenie wydzielania ADH przez przysadkę, stymuluje resorpcję sodu w cewkach nerkowych a także wpływa na wzrost kardiomiocytów, co prowadzi do przebudowy (remodellingu) mięśnia sercowego.

Gen kodujący enzym konwertujący angiotensynę znajduje się na ramieniu długim chromosomu 17 w prążku q23.3. Składa się on z 26 eksonów i 25 intronów i ma długość 21 tys. par zasad (kb) [26], [35]. Spośród wielu opisanych wariantów polimorficznych genu ACE, polimorfizm insercyjno/delecyjny (rs4646994) polega na obecności (insercji, allel I) lub braku (delecji, allel D) sekwencji repetytywnej o długości 287 par zasad w obrębie 16 intronu genu.

Wykazano, iż obecność allela D jest związana z większą aktywnością ACE, jak również ze zwiększoną produkcją inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI-1), co może być związane ze zwiększoną aktywnością płytek krwi a w konsekwencji być czynnikiem ryzyka choroby wieńcowej, zawału mięśnia sercowego, nagłej śmierci sercowej, nadciśnienia tętniczego, restenozy czy kardiomiopatii [36]. Dodatkowo stwierdzono częstsze występowanie genotypu DD u osób z nadwagą oraz otyłością brzuszną [35], [37]. Może to mieć związek z większym stężeniem enzymu konwertującego angiotensynę u tej grupy pacjentów. Polimorfizm ten był również wiązany z ryzykiem hiperlipidemii. W pracy wykonanej przez badaczy z gdańskiego ośrodka stwierdzono związek opisywanego polimorfizmu z zaawansowaniem choroby wieńcowej u pacjentów z wysokim poziomem cholesterolu [38]. Ponadto udowodniono, że allel D niezależnie od innych czynników wpływa na ryzyko i ciężkość choroby wieńcowej [39].

Wykonana w 2008 przez Zintzarasa i wsp. duża meta-analiza 118 opublikowanych wyników badań (43733 pacjentów z chorobą wieńcową) potwierdziła związek allela D z chorobą wieńcową - wykazano 25% wzrost ryzyka choroby wieńcowej u nosicieli

tego allele. Dodatkowo stwierdzono, że asocjacja allele D z CAD był tym silniejsza im bardziej liczna była badana grupa. [40].

Należy jednak zwrócić uwagę na fakt, iż niektóre badania nie potwierdzały powyższych związków [41].

1.2.3 Polimorfizm A1166C genu receptora dla angiotensyny II typu 1 (A1166C AT1R)

Opisana wyżej angiotensyna II jest jednym z najbardziej efektywnych regulatorów ciśnienia krwi i większość swoich aktywności wywołuje poprzez aktywację swoistego receptora typu 1 (AT1R). Jego aktywacja wywołuje silny skurcz mięśniówki drobnych naczyń krwionośnych i znacząco podnosi ciśnienie tętnicze krwi, tym samym zwiększając częstotliwość pracy serca. Angiotensyna II reguluje również homeostazę wodno-elektrolitową organizmu, pobudzenie współczulnego układu nerwowego oraz biosyntezę i wydzielanie niektórych kortykosteroidów.

Oprócz działań przypisanych angiotensynie II (takich wazokonstrykcja, synteza i sekrecja aldosteronu, wazopresyny, hipertrofia miokardium, stymulacja obwodowej aktywności adrenergicznej), podejrzewa się powiązanie receptora AT1R z funkcją inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI-I) a w konsekwencji zmniejszenie właściwości antytrombotycznych śródbłónka.

W publikacjach na temat polimorfizmów genu kodującego receptor AT1R badacze skupiają się przede wszystkim na polimorfizmie A1166C (rs5186) polegającym na zamianie adeniny na cytozynę w pozycji 1166 w niekodującym regionie genu na końcu 5'UTR (locus na chromosomie 3 w prążku q24). Region ten stanowi miejsce wiązania wielu czynników regulatorowych. Uważa się, że może on odgrywać rolę w regulacji epigenetycznej ekspresji genu przez wiązanie mikroRNA (miR155) [42], [43].

W przypadku tego polimorfizmu, wyróżnić można trzy genotypy : heterozygoty AC, oraz homozygoty AA i CC. W 1994 roku zespół prowadzony przez Bonnardeux opisał potencjalny związek w/w polimorfizmu z występowaniem nadciśnienia tętniczego, a także ze znacznie częstszą incydencją występowania zawału mięśnia sercowego u homozygot CC [44], [45]. Dodatkowo stwierdzono w niektórych badaniach fakt związku nosicielstwa allele C (homozygoty CC i heterozygoty AC) ze zwiększoną

sztywnością aorty, zwiększoną masą lewej komory[46], skurczem naczyń wieńcowych a także podobnie jak opisywał to Tired i Bonnardeaux występowaniem choroby wieńcowej i zawału serca [47], [48]. Postuluje się także związek nosicielstwa allela C z predyspozycją do występowania złośliwych arytmii komorowych[49].

Ponadto podejrzewa się, że AT1R wpływa na funkcje innych genów, powoduje wzrost aktywności (up-regulation) inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI-1), a także powoduje aktywację i agregację płytek krwi, co powoduje zmniejszenie właściwości przeciwzakrzepowych śródbłónka[50].

By odkryć ewentualne implikacje kliniczne związane z polimorfizmami układu RAAS badano wpływ stosowania blokerów receptora AT II na wyniki terapii w wybranych jednostkach chorobowych. W badaniu SILVHIA największą redukcję masy mięśnia lewej komory u chorych z jej przerostem zażywających bloker receptora AT II uzyskano u heterozygot AC [51]. W dużej metaanalizie przeprowadzonej na populacji azjatyckiej również stwierdzono związek nosicielstwa allelu C z chorobą wieńcową i jej zaawansowaniem[52].

W badaniach przeprowadzonych w populacjach europejskich związek ten nie został jednoznacznie potwierdzony. W badaniu CORGENE, w którym badano ponad 400 pacjentów rasy kaukaskiej stwierdzono jedynie tendencję, nieistotną statystycznie, do częstszego występowania allelu C u pacjentów z bardziej zaawansowaną miażdżycą [53].

W podsumowaniu, mimo informacji wskazujących na możliwy wpływ nosicielstwa allela C na zwiększenie ryzyka sercowo-naczyniowego, wyniki dotychczasowych analiz są wciąż niejednoznaczne i zagadnienie to wymaga dalszych badań[54].

1.2.4 Polimorfizm C344T genu syntazy aldosteronu (C344T CYP11B2)

Aldosteron jest mineralokortykoidem syntetyzowanym w warstwie kłębkowatej kory nadnerczy i jest odpowiedzialny za regulację poziomu sodu oraz objętości płynu wewnątrznaczyniowego a przez to regulację ciśnienia tętniczego. Dodatkowo

aldosteron bezpośrednio wpływa na mięsień sercowy i powoduje jego przerost i zwłóknienie poprzez wzmożoną syntezę kolagenu i proliferację fibroblastów.

Syntaza aldosteronu jest enzymem z grupy cytochromów. Jest odpowiedzialna za ostatni w szlaku syntezy proces przekształcania 11-deoksykortykosteronu w aldosteron. Proces ten ma miejsce w komórkach strefy kłębkowatej nadnerczy.

Gen kodujący syntazę (CYP11B2) zlokalizowany jest na chromosomie 8 w regionie q21-22. Do tej pory zostało potwierdzone istnienie kilku jego wariantów polimorficznych. Jeden z nich, polimorfizm C344T (rs1799998) polega na zamianie cytozyny na tyminę w pozycji -344 promotora genu. Najprawdopodobniej polimorfizm ten ma znaczenie funkcjonalne i wpływa na proces transkrypcji genu poprzez zmianę miejsca przyłączania czynnika transkrypcyjnego SF-1 (ang. *steroidogenic factor 1*). Występowanie polimorfizmu -344C powoduje utratę miejsca wiązania tego czynnika i spadek transkrypcji genu. W opublikowanych pracach wykazano zwiększoną aktywność aldosteronu u nosicieli allele T. Podobnie też pacjenci posiadający allel T, w porównaniu do osób z allelem C (homozygoty CC), uzyskiwali lepszą odpowiedź na stosowanie blokera receptora ATII w farmakoterapii nadciśnienia tętniczego. [55]

W niektórych doniesieniach przypisuje się związek polimorfizmu C344T z procesem przebudowy serca oraz zwiększoną masą lewej komory serca u nosicieli allele C[56]. Badania Helsinki Heart Study wykazały związek allele C ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia zawału serca u chorych z dyslipidemią i obciążonych nałogiem palenia tytoniu[57], z kolei badania wykonane na populacji brytyjskiej [58] nie potwierdziły tego związku. Spekuluje się, że w ocenie wpływu allele C należy dodatkowo uwzględnić działanie czynników środowiskowych i zjawisk epigenetycznych.

W badaniu SILVHIA (Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation Versus Atenolol) postulowano związek odpowiedzi na leczenie nadciśnienia tętniczego z opisywanym polimorfizmem. Pacjenci z nadciśnieniem, homozygotyczni pod względem allele T odnosili większe korzyści ze stosowania blokera receptora ATII jeśli chodzi o obniżenie ciśnienia tętniczego – polimorfizm ten nie był związany z reakcją na leczenie beta-blokerem[51]. U nosicieli allele T lepszy był również efekt hypotensyjny stosowania leków z grupy ACE-I.

W przeprowadzonym w 2012 badaniu na chińskiej populacji stwierdzono większe zaawansowanie choroby wieńcowej (Gensini Score) u pacjentów będących nosicielami allele C[59].

1.2.5 Polimorfizm T2238C genu przedsionkowego peptydu natriuretycznego (ScaI A2/A1 ANP)

Przedsionkowy peptyd natriuretyczny (ANP) jest w warunkach fizjologicznych uwalniany ze ścian przedsionków pod wpływem wzrostu ich napięcia. Jego działanie powoduje zwiększenie diurezy, usuwania sodu, wazodylatację. ANP prezentuje także działanie antymitogenne wobec mięśniówki gładkiej naczyń krwionośnych.

Wykazano, że poziom ANP koreluje ze stopniem dysfunkcji lewej komory serca, zaawansowaniem objawów niewydolności krążenia, a także jest uznanym czynnikiem rokowniczym w w/w zespołach chorobowych. Przypuszcza się, iż antymitogenne działanie ANP obserwowane w badaniach *in vitro* może mieć znaczenie w procesach patologicznej przebudowy i miażdżycy tętnic[60].

ANP składa się z 28 aminokwasów a jego gen zlokalizowany jest na ramieniu krótkim chromosomu 1 w prążku p36.22. Opisano do tej pory kilka polimorfizmów w genie ANP, jednym z nich jest polimorfizm ScaI A2/A1 (rs5065). Polega on na występowaniu tyminy lub cytozyny w pozycji 2238 genu ANP w regionie kodonu stop. Obecność cytozyny (allel A1) powoduje utratę kodonu stop w mRNA, co skutkuje wydłużeniem w procesie translacji łańcucha ANP o dwie dodatkowe argininy. Istnieją doniesienia o związku polimorfizmu T2238C z częstszym występowaniem choroby wieńcowej, nadciśnienia tętniczego, niedokrwiennego udaru mózgu, a także niewydolności nerek u chorych z nadciśnieniem tętniczym[61].

W dotychczas przeprowadzonych badaniach stwierdzono, że poziom ANP w surowicy rośnie znacząco w przeroście mięśnia lewej komory oraz w zastoinowej niewydolności serca. Poziom ANP wzrasta również w czasie ostrego zawału serca i koreluje z funkcją lewej komory mięśnia sercowego. Jest także czynnikiem

rokowniczym jeśli chodzi o rozwój niewydolności serca i zgon w ciągu kilkunastu miesięcy po zawale serca[62].

W opublikowanej w 2012 w Journal of American College of Cardiology pracy Barbato i wsp. postulują wpływ allela A1 na niekorzystne rokowanie w chorobie wieńcowej[63]. Przypuszczenie to znalazło potwierdzenie w dużej retrospektywnej analizie wykonanej w tym samym roku na prawie 40 tys. pacjentów populacji północnoamerykańskiej[64].

Dodatkowo, w 2014 w podobnym badaniu na populacji irańskiej stwierdzono większe zaawansowanie choroby wieńcowej (definiowane Gensini Score) u pacjentów z genotypem A1A1[65].

Mimo faktu, że częściej wskazuje się na dodatni wpływ allela A1 na stopień zaawansowania zmian w naczyniach wieńcowych i częstość ostrych zespołów wieńcowych, istnieją badania, w tym z gdańskiego ośrodka, w których wykazano odwrotną tendencję - występowanie większego zaawansowania choroby wieńcowej u pacjentów z genotypem A2A2[66].

Rozbieżności w wynikach cytowanych wyżej prac sugerują, że zagadnienie korelacji polimorfizmu T2238C genu ANP z chorobami układu sercowo-naczyniowego wymaga kolejnych badań i analizy na dużych, różnorodnych grupach pacjentów.

1.2.6 Polimorfizm Leu33/Pro genu glikoproteiny płytkowej (PIA1/PIA2 GPIIb)

Płytki krwi, są bezpośrednio i pośrednio zaangażowane w patogenezę miażdżycy. Pęknięcie blaszki miażdżycowej i w konsekwencji procesy katalizowane przez mediatory uwolnione z płytek równoległe do ich agregacji leżą u podłoża ostrych zespołów wieńcowych. Od prawidłowego funkcjonowania trombocytów zależy również równowaga pomiędzy procesami utrzymującymi fizjologiczną hemostazę.

Kompleks glikoproteiny płytkowej (Gp) IIb/IIIa (alfa IIb beta 3) jest jednym z głównych receptorów występujących na powierzchni trombocytów. Będąc receptorem

blonowym dla fibrynogenu i czynnika von Willebrandta, ma kluczowe znaczenie w procesie agregacji płytek.

Leki będące jego bezpośrednimi inhibitorami mają kluczowe znaczenie w terapii pacjentów z ostrym zawałem mięśnia sercowego. [67]

Płytki krwi wiążąc się z subendotelium w miejscu uszkodzenia naczynia prowadzą do aktywacji i ekspresji receptorów IIb/IIIa na powierzchni komórek.

Do tej pory stwierdzono kilka polimorfizmów w sekwencji genu GP IIb/IIIa, z czego najczęściej opisywanym jest polimorfizm *PLA1/A2* (rs5918), polegający na występowaniu dwóch wariantów glikoproteiny IIIa, w zależności od aminokwasu znajdującego się w pozycji 33 łańcucha aminokwasowego, leucyny w przypadku *PLA1* i proliny w przypadku *PLA2*. U podstaw tego polimorfizmu leży substytucja tyminy na cytozynę w pozycji 1565 sekwencji genu *GPIIIa* w egzonie drugim (locus genu na chromosomie 17 w prążku q21.32).[26]

Gardemann i wsp. wykazali istnienie związku między występowaniem wariantu *PLA2* a większym zaawansowaniem zmian w naczyniach wieńcowych przy jednoczesnym braku związku z ostrymi incydentami wieńcowymi[68]. Odmienne wyniki uzyskano w badaniu wykonanym w gdańskim ośrodku, w którym stwierdzono związek genotypu *A1A1* z większym zaawansowaniem zmian w naczyniach wieńcowych[69]. Niektórzy badacze wykazali związek allelu *PLA2* z częstszym występowaniem zawału serca i niestabilnej choroby wieńcowej w populacji[70]. Duże badania potwierdziły związek polimorfizmu *PLA1/A2* z występowaniem choroby wieńcowej oraz nagłej śmierci sercowej, opierając się na potencjalnym związku polimorfizmu genu kodującego *GPIIIa* z aktywnością płytek i aktywacją kaskady krzepnięcia przy pęknięciu blaszki miażdżycowej[71]. W przeprowadzonych na populacji polskiej badaniach udowodniono także związek nosicielstwa allelu *A2* z częstszym występowaniem udaru mózgu na podłożu choroby dużych naczyń[72].

Wpływ na powikłania miażdżycy może mieć również związek allelu *A2* z upośledzonym działaniem, powszechnie stosowanego w prewencji pierwotnej i wtórnej miażdżycy, kwasu acetylosalicylowego na płytki [73]. Sugeruje się nawet, że u homozygot *A2A2* terapia przeciwplatekowa powinna być oparta na antagonistach ADP,

jakkolwiek u nosicieli allelela *A2* nawet po zastosowaniu wysycających dawek kłopidogrelu aktywność płytek była istotnie większa niż u homozygot *A1A1* [74].

W jednej z metaanaliz wykonanej przez zespół włoskich badaczy stwierdzono związek allelela *A2* z częstszym występowaniem bardziej zaawansowanych zmian w naczyniach wieńcowych jedynie wśród młodszych pacjentów[75]. Trzeba zaznaczyć, że nie wszystkie badania potwierdzają powyższe zależności. Opublikowano także wyniki badań, w których związek polimorfizmu genu *GPIIb/IIIa* z powikłaniami natury sercowo-naczyniowej nie został potwierdzony [76].

1.2.7 Polimorfizm G460W genu alfa adducyny (G460W *ADD1*)

Alfa-adducyna jest białkiem cytoszkieletu, składającym się z podjednostek α i β lub α i γ . Pomędzy poszczególnymi podjednostkami występują znaczne podobieństwa strukturalne, jak również dotyczące sekwencji aminokwasów i organizacji przestrzennej domen. Podjednostka α może występować w prawie wszystkich komórkach ciała, natomiast występowanie pozostałych podjednostek zależy od rodzaju tkanki. Adducyna odgrywa rolę w determinowaniu kształtu komórki przez wpływ na włókna aktynowe cytoszkieletu oraz regulację transportu przez błonowego jonów poprzez swój udział w funkcji pompy sodowo/potasowej. [77]

Gen dla alfa-adducyny znajduje się na ramieniu krótkim chromosomu 4 (4p16). Wykazano, iż polimorfizm G460W (rs4961), polegający na substytucji guaniny przez tyminę w pozycji 217 egzonu 10 (efektem jest zamiana glicyny na tryptofan w łańcuchu białkowym) jest związany z sódowrażliwością a w konsekwencji nadciśnieniem tętniczym. Osoby z allelelem 460W charakteryzuje podwyższona resorpcja sodu w nerkach[78]. Najprawdopodobniej ten mechanizm jest przyczyną lepszej reakcji na leczenie hydrochlorotiazylem u nosicieli allelela 460W względem homozygot 460GG[79]. Publikacja podsumowująca wyniki badania INVEST-GENES wskazuje na związek polimorfizmu z występowaniem incydentów sercowo-naczyniowych w ogólnej populacji, niemniej wśród rasy białej ryzyko to nie miało istotnego statystycznie znaczenia[80].

Opublikowane zostały prace sugerujące, że opisywany polimorfizm może korelować z zaawansowaniem zmian miażdżycowych w naczyniach wieńcowych, a także z częstszym występowaniem ostrych zespołów wieńcowych i udaru mózgu[81], [82]. W niektórych pracach stwierdzono iż nosiciele allele W(Tryptofan) są bardziej narażeni na zgon z powodów sercowo-naczyniowych, a także częściej prezentują zaburzenia gospodarki lipidowej[83].

1.2.8 Polimorfizm C825T genu podjednostki beta-3 białka G (C825T GNB-3)

Białka G są grupą polimorficznych protein błony komórkowej o aktywności GTPazy. Występują we wszystkich komórkach ciała ludzkiego i pośredniczą w przekazywaniu sygnałów komórkowych pochodzących z receptorów błonowych do wnętrza komórki. Każde białko G związane jest z receptorem błonowym i składa się z trzech podjednostek (α , β i γ). Heterodimer $\beta\gamma$ po pobudzeniu receptora zyskuje możliwość aktywowania różnych białek efektorowych i wewnątrzkomórkowych szlaków przekazywania sygnałów.

Ponieważ białko G wchodzi w skład większości receptorów błonowych, pełni kluczową rolę w przekazywaniu wielu sygnałów wewnątrzkomórkowych. Poszukuje się związku jego funkcji z patogenezą rozmaitych zaburzeń funkcjonowania komórki. Bierze ono także udział w regulacji wielu mechanizmów potencjalnie powiązanych z etiopatogenezą choroby niedokrwiennej serca takich jak procesy proliferacji i migracji komórek mięśniówki gładkiej, reakcje na chemokiny, angiotensynę II i inne substancje czynne w procesach zapalnych i powiązanych z aterogenezą. Dodatkowo należy podkreślić rolę białka G w procesach adhezji płytek i tworzeniu przyściennej skrzepliny w tym w naczyniach wieńcowych. Potwierdzony dotąd został związek polimorfizmu C825T (zamiana cytozyny na tyminę w pozycji 825 genu kodującego podjednostkę $\beta 3$ białka G, znajdującego się na ramieniu krótkim chromosomu 12 w prążku p13.31) zarówno występowaniem jak i zaawansowaniem choroby wieńcowej[84], [85].

Polimorfizm 825 C/T występuje w egzonie 10 i jego efektem jest zaburzenie procesu składania mRNA, w wyniku czego dochodzi do delecji nukleotydów egzonu 9 i powstania krótszego mRNA. W efekcie tego, w procesie translacji powstaje białko skrócone o 41 aminokwasów, o wzmocnionej funkcji sygnałowej.

W opublikowanych do tej pory pracach, wykazano, że allel T występował częściej u chorych z chorobą niedokrwienną serca. Jego nosicielstwo było również powiązane z bardziej zaawansowanymi zmianami miażdżycowymi w naczyniach wieńcowych. Ponadto zostało udowodnione, iż ten sam allel jest powiązany z częstszym występowaniem zawału serca. Stwierdzono również potencjalny związek allelu T ze zwiększonym stężeniem cholesterolu we krwi oraz zwiększoną insulinoopornością[86]. Przede wszystkim jednak wariant ten jest związany z jednoczasowym występowaniem tzw. „dużych” czynników ryzyka sercowo-naczyniowego (otyłość, nadciśnienie tętnicze, hiperlipidemia, cukrzyca) [87]. W niektórych badaniach stwierdzono częstsze występowanie genotypu TT u pacjentów z nagłą śmiercią sercową w wyniku zawału mięśnia sercowego. Zależność ta była silniejsza u kobiet. [88] Należy nadmienić, iż w niektórych badaniach nie udało się potwierdzić związku polimorfizmu C825T z chorobą wieńcową [89].

Ponieważ istnieje ścisły związek udaru mózgu z większym zaawansowaniem choroby wieńcowej i miażdżycy. W niektórych badaniach potwierdzona została jego asocjacja z polimorfizmem 825 C/T [84], jednak przeprowadzone do tej pory meta-analizy i wiele mniejszych badań prezentują mniej zachęcające lub niekonkluzywne wyniki. [90], [91]

2. Cel badań i hipoteza badawcza

2.1 Cel badania

Celem przeprowadzonych badań była ocena związku następujących wariantów polimorficznych:

1. *M235T* genu angiotensynogenu (*M235T AGT*),
2. *Insercyjno/delecyjnego* genu enzymu konwertującego angiotensynę I (*I/D ACE*),
3. *A1166C* genu receptora dla angiotensyny II typu 1 (*A1166C AT1R*),
4. *C344T* genu syntazy aldosteronu (*C344T CYP11B2*),
5. *T2238C* genu przedsionkowego czynnika natriuretycznego (*ScaI ANP*),
6. *Leu33/Pro* genu glikoproteiny płytkowej IIIa (*PLA1/PLA2 GPIIIa*),
7. *G460W* genu alfa adducyny (*G460W ADD1*),
8. *C825T* genu podjednostki beta-3 białka G (*C825T GNB-3*)

wśród chorych poddanych elektywnej koronarografii z:

- ocenianym prospektywnie ryzykiem wystąpienia poważnych incydentów sercowo-naczyniowych takich jak zgon, ostry zespół wieńcowy, udar mózgu.
- zaawansowaniem zmian w naczyniach wieńcowych ocenianych przy pomocy skali Gensini Score (GS).
- klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego.

2.2 Hipoteza badawcza

Występowanie w genotypie danego osobnika pojedynczego, wybranego allele lub określonego genotypu badanych polimorfizmów genów zwiększa ryzyko wystąpienia poważnych incydentów sercowo-naczyniowych (takich jak: zgon, ostry zespół wieńcowy, udar mózgu) w prospektywnej obserwacji po wykonanej w trybie elektywnym koronarografii

2.3 Punkty końcowe/MACE

W niniejszej pracy wzięto pod uwagę następujące punkty końcowe (endpoints):

1. Główny złożony punkt końcowy (MACE - Main Adverse Cardiovascular Event) definiowany jako wystąpienie zgonu i/lub ostrego zespołu wieńcowego i/lub udaru mózgu

2. Drugorzędowe punkty końcowe

2.1. Ostry zespół wieńcowy (OZW) - wystąpienie dowolnego z następujących prostych punktów końcowych:

- a. Zawał serca z uniesieniem odcinka ST (STEMI)
- b. Zawał serca bez uniesienia odcinka ST (NSTEMI)
- c. Dławica niestabilna (UA)

2.2. Udar mózgu (Udar) – drugorzędowy prosty punkt końcowy

2.3. Zgon – drugorzędowy złożony punkt końcowy

- a. Zgon z przyczyn sercowo-naczyniowych (CVD - Cardiovascular Death)
- b. Zgon z przyczyny niesercowo-naczyniowych (non-CVD)
- c. Zgon z przyczyn nieznanych (UCD –Unknown Cause of Death)

3. Materiał i metody

3.1 Grupa badana

Wstępnie do badania włączono 1908 pacjentów hospitalizowanych od sierpnia 2003 r. do sierpnia 2006 r. w I Klinice Kardiologii Akademii Medycznej w Gdańsku w celu wykonania planowej angiografii tętnic wieńcowych. Na podstawie kryteriów włączenia i wykluczenia wyselekcjonowano grupę 1345 pacjentów.

3.2 Kryteria włączenia i wyłączenia

Kryteria włączenia do badania:

1. Wiek pacjenta ≥ 18 lat w momencie włączenia do badania.
2. Wystąpienie objawów niedokrwienia mięśnia sercowego będące podstawą kwalifikacji do wykonania planowej koronarografii (pozytywny wynik elektrokardiograficznej próby wysiłkowej, echokardiograficznej próby wysiłkowej lub echokardiograficznej próby dobutaminowej).
3. Wyrażenie i podpisanie przez pacjenta formularza świadomej zgody na udział w badaniu.

Kryteria wyłączenia:

1. Brak zgody pacjenta na udział w badaniu.
2. Wada zastawkowa lub inna wada serca kwalifikująca do zabiegu kardiochirurgicznego.
3. Przewlekła choroba nerek z poziomem kreatyniny w surowicy krwi >1.9 mg/dl
4. Inna przewlekła choroba ograniczająca czas przeżycia pacjenta.

3.3 Dane kliniczne

Wywiad dotyczący dotychczasowego przebiegu chorób układu sercowo-naczyniowego oraz czynników ryzyka przeprowadzony był podczas badania podmiotowego na początku hospitalizacji.

Dane dotyczące wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych zostały uzyskane od Narodowego Funduszu Zdrowia w postaci arkuszy zawierających zakodowane dane dotyczące świadczeń zdrowotnych, zgodne z międzynarodową klasyfikacją jednostek chorobowych ICD-10 oraz wymogami NFZ w objętej badaniem grupie pacjentów w okresie od 2003 do końca 2011 r.

Jako dodatni wywiad rodzinny w kierunku choroby wieńcowej uznawano występowanie choroby wieńcowej u krewnego pierwszego stopnia (rodzice, rodzeństwo).

Nadciśnienie tętnicze rozpoznawano jeśli pomiar ciśnienia tętniczego krwi w trakcie hospitalizacji wykazywał wartości ≥ 140 mmHg dla ciśnienia skurczowego i/lub ≥ 90 mmHg dla ciśnienia rozkurczowego lub jeśli u chorego wcześniej rozpoznano nadciśnienie tętnicze i/lub u chorego stosowana była terapia hipotensyjna.

Cukrzycę diagnozowano na podstawie poziomu glikemii na czczo w trakcie hospitalizacji (stosowano kryteria WHO) i/lub na podstawie wcześniejszego rozpoznania cukrzycy i/lub wdrożonego leczenia hipoglikemicznego.

Profil lipidowy (cholesterol całkowity) oznaczano standardowymi metodami analityki medycznej w Akademickim Centrum Medycyny Laboratoryjnej.

Charakterystykę kliniczną badanej grupy przedstawiono w Tabeli 1. Charakterystyka kliniczna badanej grupy

Tabela 1. Charakterystyka kliniczna badanej grupy

Całkowita liczba badanych osób	n=1345
Wiek (lata)	63±9.2
Kobiety	39.3% (n=529)

Mężczyźni	60.7% (n=816)
Wzrost (cm)	168±8.6
Masa ciała (kg)	79±13.8
BMI	28±4.1
Obwód talii (cm)	97±10.9
Obwód bioder	104±8.9
Obwód ramienia	30±3.9
Choroba wieńcowa w wywiadzie	82.8% (n=1114)
Interwencja wieńcowa w wywiadzie	26.2% (n=352)
Nadciśnienie tętnicze w wywiadzie	77.5% (n=1042)
Udar mózgu w wywiadzie	4.2% (n=56)
Cukrzyca	21.9% (n=294)
Papierosy obecnie	12.5% (n=168)
Papierosy w przeszłości	61.6% (n=828)

Ze względu na możliwość wydłużenia planowanego wstępnie dwuletniego prospektywnego okresu obserwacji, analizę wyników przedstawionych w niniejszej pracy przeprowadzono w oparciu o dane otrzymane z NFZ obejmujące lata 2003-2011.

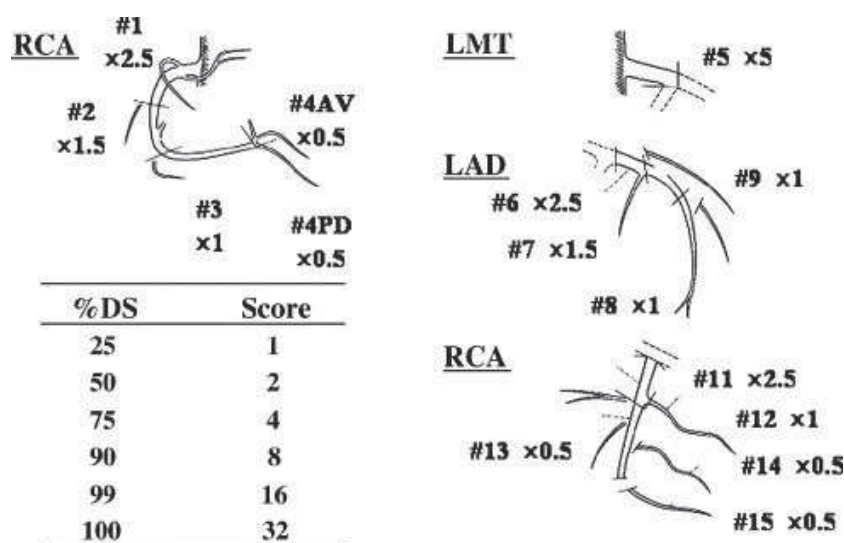
3.4 Diagnostyka inwazyjna

Selektywna angiografia wieńcowa została wykonana w Pracowni Kardiologii Inwazyjnej I Kliniki Kardiologii Akademii Medycznej w Gdańsku. Badanie było wykonywane metodą Judkinsa z wykorzystaniem aparatu Integris HM 300 (Philips) lub Axiom (Siemens), z dostępu przez tętnicę udową, ramienną lub promieniową.

Każda ze zmian uwidoczniona została w standardowych (oraz w razie potrzeby w dodatkowych indywidualnie dobieranych) projekcjach. Gensini Score został wyliczony na podstawie wizualnej oceny wszystkich zmian w naczyniach wieńcowych. Na podstawie aktualnych wskazań pacjenci byli kwalifikowani do rewaskularyzacji lub leczenia zachowawczego choroby wieńcowej.

5. Gensini Score

Wynik punktowy w skali Gensini był obliczony poprzez sumowanie wartości następujących iloczynów dla każdej ze zmian opisanych przez lekarza diagnostę oceniającego badanie angiograficzne: (wartość punktowa % zwężenia) x (mnożnik zależny od umiejscowienia zgodnie z poniższą ryciną i tabelami (tabela zawiera wartość punktową dla przedziału procentowego zwężenia, piktogramy - mnożnik).



Rysunek 10. Zestawienie mnożników wykorzystywanych w skali Gensini dla poszczególnych segmentów naczyń wieńcowych

Suma punktów przypisanych poszczególnym zmianom odzwierciedlała stopień zaawansowania miażdżycy tętnic wieńcowych u każdego pacjenta.

W Tabeli 2 przedstawiono współczynniki odpowiadające poszczególnym segmentom w tętnicach wieńcowych ocenianym w skali Gensini, a w Tabeli 3 wartości punktowe odpowiadające stopniom przewężenia tętnic wieńcowych.

Tabela 2. Współczynniki odpowiadające poszczególnym segmentom tętnic wieńcowych ocenianym w skali Gensini.

Segment tętnicy wieńcowej	Wsp.
Prawa tętnica wieńcowa	
Segment proksymalny	1
Segment środkowy	1
Segment dystalny	1
Lewa tętnica wieńcowa	
Pień lewej tętnicy wieńcowej	5
Gałąź przednia zstępująca lewej tętnicy wieńcowej	
Segment proksymalny	2.5
Segment środkowy	1.5
Segment dystalny	1
Gałąź diagonalna pierwsza	1
Gałąź diagonalna druga	0.5
Gałąź okalająca lewej tętnicy wieńcowej	
Segment proksymalny (do odejścia gałęzi marginalnej)	2.5
Gałąź marginalna	1
Segment dystalny (po odejściu gałęzi marginalnej)	1
Gałąź tylna-boczna	0.5
Gałąź tylna zstępująca	1

Tabela 3. Punkty odpowiadające poszczególnym stopniom zwężenia tętnic wieńcowych w skali Gensini.

% zwężenia tętnicy wieńcowej	punkty
25	1
50	2
75	4
90	8
99	16
100	32

Na podstawie otrzymanych wyników ocenia się zaawansowanie choroby wieńcowej w/g następujących kryteriów:

- 0 - brak zwężeń w naczyniach wieńcowych
- 1-19 - minimalne oznaki choroby wieńcowej
- >20 zaawansowana choroba wieńcowa[92]

3.6 Analiza prospektywna

Dane dotyczące prospektywnej analizy wyników zostały uzyskane od Narodowego Funduszu Zdrowia i zawierały informacje o hospitalizacjach i ich przyczynach w badanej grupie pacjentów zgodnie z międzynarodową klasyfikacją jednostek chorobowych ICD-10 i wymogami NFZ. Zestawienie danych pacjentów z NFZ obejmowało okres od 2003 do 2011 roku.

3.7 Izolacja materiału

Od każdego pacjenta pobrano 2 ml krwi obwodowej do probówki z antykoagulantem w postaci EDTA (Vacutainer). Do momentu izolacji materiału genetycznego, krew przechowywano w temperaturze -80°C . Izolację genomowego DNA wykonano za pomocą komercyjnego zestawu Genomic Micro AX Blood Gravity (A&A Biotechnology) zgodnie z protokołem producenta, otrzymując stężenie DNA nie mniejsze niż 20ng/μl. Izolacja materiału genetycznego była wykonana w Katedrze i Zakładzie Biologii i Genetyki Akademii Medycznej w Gdańsku (kierownik: prof. dr hab. n. med. Janusz Limon).

3.8 Badania genetyczne

3.8.1 Genotypowanie (oznaczenia występowania polimorfizmów genetycznych)

Genotypowanie wykonano w Clinical Research Center, University of Lund, Malmö w Szwecji (kierownik: prof. Olle Melander).

Oznaczenia polimorfizmów genetycznych wykonano za pomocą platformy genotypizującej IPLEX MassARRAY (Sequenom, San Diego, CA, USA) zgodnie z protokołem producenta. Metoda ta wykorzystuje łańcuchową reakcję polimerazy (PCR, ang. polymerase chain reaction) oraz spektrometrię mas w konfiguracji MALDI-TOF. Spektrometr mas MALDI-TOF do jonizacji cząsteczek wykorzystuje desorpcję laserową z udziałem matrycy (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation*, MALDI) i analizator masy typu przelotu (*Time of Flight*, TOF).

3.8.2 Metoda – TaqMan

Dla wykrycia obecności u chorych wybranych polimorfizmów zastosowano metodę TaqManTM (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) .

Metoda TaqMan polega na oznaczeniu występowania w badanym DNA polimorfizmów techniką PCR w czasie rzeczywistym z użyciem sond o tej samej nazwie. Sondy TaqMan (ang. *TaqMan probes*, *5'-nuclease probes*) są to krótkie oligonukleotydy zawierające na końcu 5' znacznik fluorescencyjny (np. fluoresceinę - FAM), a na końcu 3' cząsteczkę wygaszającą fluorescencję (np. pochodną rodaminy – TAMRA lub DABCYL).

Sondy TaqMan, podobnie jak inne liniowe sondy, powinny posiadać takie cechy jak: długość 20-40 nukleotydów, zawartość par G + C 40-60%, brak powtórzeń pojedynczych nukleotydów (szczególnie G) i dłuższych motywów, brak hybrydyzacji sond ze starterami oraz brak hybrydyzacji z sekwencjami, do których przyłączają się startery, temperatura topnienia sondy powinna być przynajmniej 5 °C wyższa niż temperatura topnienia (ang. *melting point*) primerów.

Sondy TaqMan wymagają, aby proces identyfikacji polimorfizmu przebiegał prawidłowo, temperatury 68 °C, ponieważ w tej temperaturze proces degradowania sondy przez polimerazę zachodzi najbardziej wydajnie, dlatego też w czasie reakcji elongacji produktu temperatura oscyluje między 65 a 70 °C.[93]

Metoda TaqMan wymaga specyficznej pary primerów dla badanego miejsca polimorficznego i użycia polimerazy TAQ, która ma własność degradacji nici DNA od końca 5' na etapie wydłużania (elongacji) powstającej nici komplementarnej w czasie replikacji i usuwa w ten sposób primery dołączone do badanej nici DNA.

Sondy TaqMan są komplementarne do miejsca polimorficznego dzięki czemu "rozpoznają" SNP. Jeśli podczas syntezy produktu, w czasie reakcji PCR polimeraza napotka na dołączoną sondę do sekwencji z badanym SNP dochodzi do jej degradacji i oddzielenia fluorochromu od sondy, co można wykryć w detektorze fluorescencji. Gdy sonda nie znajdzie miejsca komplementarnego i nie dołączy się do badanego miejsca genu brak jest fluorescencji. Zastosowanie drugiej sondy z dołączonym innym

fluorochromem, specyficznej dla sekwencji "dzikiej" tj. prawidłowej pozwala na wykrycie w jednej reakcji zarówno allela prawidłowego i zmutowanego.

Cały protokół genotypowania został przeprowadzony zgodnie z zaleceniami producenta systemu (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).[93]

3.9 Analiza statystyczna uzyskanych wyników badań

3.9.1 Narzędzia statystyczne

W analizie statystycznej wykorzystano oprogramowanie: Statistica, Cran R (moduł genetics), oraz Stata. Agregacja danych wykonana była przy pomocy pakietu Microsoft Office (Excel, Access) oraz silnika relacyjnych baz danych MySQL.

3.9.2 Metody statystyczne

Wyniki podano jako średnie arytmetyczne i odchylenia standardowe (SD) lub jako proporcje. Oceniano rozkład zmiennych ciągłych pod kątem jego zgodności z rozkładem normalnym stosując test Kołmogorowa-Smirnowa. Istotność statystyczną różnic między średnimi zmiennych o rozkładzie normalnym oceniano za pomocą testu *t*-Studenta, a między średnimi zmiennych o rozkładzie różnym od normalnego testem Mana-Whitney'a U. W przypadku porównywania więcej niż dwóch średnich posługiwano się testem wariancji ANOVA/MANOVA i testami post hoc. Zmienne kategoryczne oceniano za pomocą testu χ^2 w modyfikacji Pearsona.

Test χ^2 został użyty do analizy zgodności uzyskanych rozkładów genotypów z równowagą Hardy-Weinberg'a oraz dla porównania rozkładów genotypów między poszczególnymi podgrupami. Związek poszczególnych genotypów z wystąpieniem punktu końcowego oceniano przy pomocy wieloczynnikowej analizy logistycznej. Jako miarę ryzyka związanego z danym genotypem kalkulowano ilorazy szans (OR-*odds ratio*) z 95% przedziałami ufności (95% CI- *confidence intervals*). Wartość $p < 0.05$ była traktowana jako znamienna statystycznie.

4. Wyniki

4.1 Dane podstawowe

4.1.1 Częstości występowania punktów końcowych

W całej analizowanej grupie 1345 pacjentów główny złożony punkt końcowy wystąpił u 564 pacjentów (41.9%). Ostry zespół wieńcowy wystąpił łącznie u 27.3% badanych pacjentów, natomiast zgon u 14% pacjentów w całym okresie prospektywnej obserwacji (Tabela 4).

Tabela 4. Częstości występowania punktów końcowych w badanej grupie

Punkt końcowy	Chorzy z punktem końcowym	Chorzy bez punktu końcowego
MACE	41.9%(564)	58.1% (781)
OZW	27.3% (367)	72.7% (978)
STEMI	16.2% (218)	83.8% (1127)
NSTEMI	3.5% (47)	96.5% (1298)
UA	11.5% (155)	88.5% (1190)
Udar mózgu	5.0% (67)	96% (1291)
Zgon	14% (196)	86% (1149)
CVD	4.0% (54)	96% (1291)
Non-CVD	2.8% (37)	97.2% (1308)
UCD*	7.8% (105)	92.2% (1240)
PTCA	27.5% (370)	975 (72.5%)
CABG	16.2% (218)	83.8% (1127)

*UCD – Unknown Cause of Death – śmierć z nieznanych przyczyn

4.1.2 Częstość występowania punktów końcowych w zależności od obecności klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego

Wśród pacjentów, u których wystąpił główny końcowy punkt badania (ostry zespół wieńcowy, zgon, udar) znamienne częściej, w porównaniu do pacjentów bez wystąpienia punktu końcowego, występowało nadciśnienie tętnicze i cukrzyca.

Stwierdzono również bardziej zaawansowany wiek w tej grupie pacjentów oraz znamienne wyższą średnią wartość BMI (tabela 5).

Tabela 5. Częstość występowania głównego złożonego punktu końcowego w zestawieniu z klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego

Czynnik ryzyka	Chorzy bez punktu końcowego (n=927)	Chorzy z punktem końcowym (n=418)	p
Wiek (lata)	62.4±9	64.5±9	0.003
BMI (kg/m2)	27.9±4	28.1±4	0.024
Cholesterol całkowity (mg%)	203.6±50	209.3±58	0.122
Nadciśnienie tętnicze (%)	78.8%	84.7%	0.014
Cukrzyca (%)	19.3%	29.9%	<0.001
Tytoń (%)	11%	8.1%	0.26

Tabela 6. Częstość występowania złożonego punktu końcowego OZW w zestawieniu z klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego.

Czynnik ryzyka	Chorzy bez punktu końcowego (n=1106)	Chorzy z punktem końcowym (n=239)	p
Wiek (lata)	62.78±9	64.2±9	0.594
BMI (kg/m2)	27.9±4	28.3±4	0.378
Cholesterol całkowity (mg%)	205.23±31	205.83±63	0.810
Nadciśnienie tętnicze (%)	79.4%	86.3%	0.016
Cukrzyca (%)	20.7%	30.3%	0.001
Tytoń (%)	11.1%	6.6%	0.236

Stwierdzono również znamienne częstsze występowanie nadciśnienia tętniczego i cukrzycy u chorych, u których w okresie obserwacji wystąpił ostry zespół wieńcowy. Natomiast wartości średnie wieku, BMI i stężenia cholesterolu całkowitego nie różniły się znamienne w podgrupach pacjentów z i bez wystąpienia OZW w okresie prospektywnej obserwacji (tab. 6).

U 196 chorych, którzy zmarli w okresie prospektywnej obserwacji stwierdzono znamienne wyższą wartość średnią wieku, BMI i cholesterolu całkowitego oraz

znamiennie częstsze występowanie cukrzycy w porównaniu z chorymi, którzy przeżyli okres obserwacji (tab. 7).

Tabela 7. Częstość występowania złożonego punktu końcowego zgon w zestawieniu z klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego

Czynnik ryzyka	Chorzy bez punktu końcowego (n=1149)	Chorzy z punktem końcowym (n=196)	p
Wiek (lata)	62.59±9	65.9±9	<0.001
BMI (kg/m²)	28.0±4	28.0±4	0.014
Cholesterol całkowity (mg%)	204.03±52	212.5±52	0.008
Nadciśnienie tętnicze (%)	79.5%	84.9%	0.086
Cukrzyca (%)	20.4%	34.4%	<0.001
Tytoń (%)	9.6%	17.6%	0.137

Wśród chorych z udarem mózgu (n=68) średnia wartość wieku, BMI, cholesterolu całkowitego były podobne jak u chorych bez udaru w okresie prospektywnej obserwacji.

Również częstości występowania nadciśnienia tętniczego, cukrzycy i palenia tytoniu były podobne w obu podgrupach (tab. 8).

Tabela 8. Częstość występowania złożonego punktu końcowego udar mózgu w zestawieniu z klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego

Czynniki ryzyka	Chorzy bez punktu końcowego (n=1277)	Chorzy z punktem końcowym (n=68)	p
Wiek (lata)	63.11±9	66.1±8.5	0.157
BMI (kg/m ²)	28.05±4	27.2±3.8	0.421
Cholesterol całkowity (mg%)	205.06±52	209.29±55	0.997
Nadciśnienie tętnicze (%)	80.3%	86.2%	0.265
Cukrzyca (%)	22.2%	26.7%	0.412
Tytoń (%)	10.1%	15%	0.477

4.1.3 Wartości średnie skali punktowej Gensini Score w podgrupach pacjentów z incydentami sercowo-naczyniowymi

W tabeli Tabela 9 przedstawiono średnie wartości punktowe Gensini Score w badanej grupie chorych w zestawieniu z wszystkimi złożonymi i prostymi punktami końcowymi.

Wśród pacjentów, u których wystąpił główny złożony punkt końcowy stwierdzono znamienne wyższą wartość średnią punktową w skali Gensini, uzyskaną na podstawie oceny wyjściowej planowej koronarografii sugerującą większe zaawansowanie zmian w naczyniach wieńcowych w porównaniu z chorymi, u których nie doszło do wystąpienia głównych incydentów sercowo-naczyniowych w okresie prospektywnej obserwacji w latach 2003-2011.

Podobnie, u pacjentów, u których wystąpił zawał mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST (STEMI), wykazano wyjściowo wyższą wartość punktową w skali Gensini. Także w przypadku zgonu wartość wyjściowa wskaźnika Gensini Score była wyższa w porównaniu z pacjentami, którzy przeżyli okres obserwacji prospektywnej.

Tabela 9. Zestawienie średnich wartości punktowych Gensini Score i wystąpienia punktów końcowych

Punkt końcowy	Chorzy bez incydentu	Chorzy z incydentem	p
MACE	27.6± 36.1	35.1±41.1	<0.001
OZW	29.5±38.2	33.3±38.9	0.140
STEMI	29.7±38.4	36.4±38.1	0.024
NSTEMI	30.5±38.2	38.9± 45.4	0.178
UA	31.1±38.7	28.9±36.3	0.416
Udar mózgu	30.4±38.3	36.5±41.3	0.235
Zgon	28.7± 36.7	42.5±46.1	<0.001
CVD	30.2± 38.1	41.0±45.6	0.051
Non-CVD	30.3± 38.2	42.0±43.7	0.061
UCD	29.6±37.4	43.4±47.7	<0.001

4.1.4. Częstości występowania genotypów wybranych wariantów polimorficznych w badanej populacji chorych

W tabelach od Tabela 10 do Tabela 17 przedstawiono obserwowane w badanej grupie częstości występowania genotypów i alleli wariantów polimorficznych 8 analizowanych genów. Różnice w liczbie badanych osób w wymienionych tabelach wynikały z faktu, iż nie we wszystkich próbkach udało się przeprowadzić kompletne genotypowanie wybranych 8 polimorfizmów.

W przypadku polimorfizmu *M235T* genu angiotensynogenu analizie poddano ogółem 1003 osoby, wśród których było 396 kobiet i 607 mężczyzn (tab. 10). Stwierdzono, że najczęściej, tj. u prawie połowy chorych, występował heterozygotyczny genotyp MT. Pozostałe genotypy (MM i TT) występowały dwukrotnie rzadziej, niż genotyp heterozygotyczny i obserwowano je z podobną częstością (odpowiednio 24,3% i 26,8%). W przypadku analizy częstości alleli, w badanej grupie najczęściej występował allel T. Częstości występowania poszczególnych genotypów i alleli nie różniły, gdy podzielono populację badaną pod względem płci (Tabela 10).

Tabela 10. Zestawienie częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu *M235T* genu AGT w badanej grupie chorych

Genotyp	Cała badana grupa (N=1003)	Płeć	
		Kobiety (N=396)	Mężczyźni (N=607)
TT	26,8% (269)	27,3% (108)	26,5% (161)
MT	48,9% (490)	48,5% (192)	49,1% (298)
MM	24,3% (244)	24,2% (96)	24,4% (148)
<i>Allel</i>	2N=2006	2N=792	2N=1214
T	51% (1028)	51,5% (408)	51,1% (620)
M	49% (978)	48,5% (384)	48,1% (594)

W Tabeli 11 przedstawiono rozkład częstości form polimorficznych genu enzymu konwertującego angiotensynę. Badanie przeprowadzono na grupie 999 osób, wśród których były 393 kobiety i 606 mężczyzn. W badanej grupie najczęściej występował genotyp ID (51% osób), genotypy homozygotyczne (II i DD) występowały ze zbliżoną częstością. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w częstości występowania poszczególnych genotypów i alleli pomiędzy osobami o odmiennej płci (tab.11).

Tabela 11. Zestawienie częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu insercyjno/delecyjnego genu enzymu konwertującego angiotensynę w badanej grupie chorych

Genotyp	Cała badana grupa (N=999)	Płeć	
		Kobiety (N=393)	Mężczyźni (N=606)
DD	22.1% (221)	22,1% (87)	22,1% (134)
ID	51.0% (510)	49,1% (193)	52.3% (317)
II	26.8% (268)	28,8% (113)	25,6% (155)
<i>Allel</i>	2N=1998	2N=786	2N=1212
D	47.6% (952)	46,7% (367)	48,3% (585)
I	52.4% (1046)	53,3% (419)	51,7% (627)

W tabeli 12 przedstawiono wyniki analizy uzyskane dla polimorfizmu A1166C genu receptora dla angiotensyny II typu 1. Ogółem badanie wykonano na grupie 1019 osób (398 kobiet i 621 mężczyzn). Najczęściej występującym genotypem był homozygotyczny genotyp AA, który występował u 51% badanych osób (z podobną częstością w grupie kobiet i mężczyzn). Drugim w kolejności był genotyp AC, który obserwowano u 40,4% chorych (z podobną częstością w grupach kobiet i mężczyzn). Najrzadziej obserwowany był genotyp CC, który obserwowano u 8,6% chorych. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic tak w częstości występowania poszczególnych genotypów, jak i alleli pomiędzy grupami badanych kobiet i mężczyzn.

Tabela 12. Zestawienie częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu A1166C genu receptora dla angiotensyny II typu I w badanej grupie chorych

Genotyp	Cała badana grupa (N=1019)	Płeć	
		Kobiety (N=398)	Mężczyźni (N=621)
AA	51.0% (520)	51,3% (204)	50.9% (316)
AC	40.4% (412)	40,2% (160)	40,6% (252)
CC	8.6% (87)	8,5% (34)	8,5% (53)
<i>Allel</i>	2N=2038	2N=796	2N=1242
A	71% (1452)	71,4% (568)	71,2% (884)
C	29% (586)	28,6% (228)	28,8% (358)

W przypadku polimorfizmu C344T genu syntazy aldosteronu grupa badana liczyła 1010 osób, wśród których były 394 kobiety i 616 mężczyzn (tab. 13). Najczęściej obserwowanym genotypem był heterozygotyczny genotyp TC, który obserwowano u nieco ponad połowy badanych chorych (50,6%). Homozygotyczne genotypy TT i CC, obserwowano odpowiednio u 27,8% i 21,6% chorych. Nie stwierdzono wystąpienia istotnych statystycznie różnic tak w częstości występowania poszczególnych genotypów, jak i alleli pomiędzy grupami badanych mężczyzn i kobiet (tab. 13).

Tabela 13. Zestawienie częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu C344T genu syntazy aldosteronu w badanej grupie chorych

Genotyp	Cała badana grupa (N=1010)	Płeć	
		Kobiety (N=394)	Mężczyźni (N=616)
TT	27.8% (281)	27,7% (109)	27,9% (172)
TC	50.6% (511)	51,0% (201)	50,3% (310)
CC	21.6% (218)	21,3% (84)	21,8% (134)
<i>Allel</i>	2N=2020	2N=788	2N=1232
T	53% (1073)	53,2% (419)	53,1% (654)
C	47% (947)	46,8% (369)	46,9% (578)

W tabeli Tabela 14 przedstawiono wyniki analizy polimorfizmu T228C genu przedsionkowego peptydu natriuretycznego. Badania przeprowadzono w grupie 1022 osób, wśród których było 400 kobiet i 622 mężczyzn. Najczęściej obserwowanym genotypem był homozygotyczny genotyp A2A2, który wystąpił u 75,8% badanych chorych. Heterozygotyczny genotyp A1A2 występował u 22,4% chorych, a najrzadziej obserwowano genotyp A2A2, który występował tylko u 7,8% badanych osób. Nie obserwowano istotnych statystycznie różnic tak w częstości występowania poszczególnych genotypów, jak i alleli pomiędzy grupami badanych mężczyzn i kobiet.

Tabela 14. Zestawienie częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu T228C genu przedsionkowego peptydu natriuretycznego (ScaI A2/A1 ANP) w badanej grupie chorych

Genotyp	Cała grupa badana (N=1022)	Płeć	
		Kobiety (N=400)	Mężczyźni (N=622)
A2A2	75.8% (775)	75,5% (302)	76,0% (473)
A1A2	22.4% (229)	22,8% (91)	22,2% (138)
A1A1	1.7% (18)	1,7% (7)	1.8% (11)
<i>Allel</i>	2N=2044	2N=800	2N=1244
A2	87% (1779)	86,9% (695)	87,1% (1084)
A1	13% (265)	13,1% (105)	12,9.4% (160)

W przypadku polimorfizmu Leu33/Pro genu glikoproteiny płytkowej (PIA1/PIA2 GPIIb) badania zostały wykonane na grupie 1007 osób, wśród których było 392 kobiet i 615 mężczyzn (tab. 15). Najczęściej obserwowano homozygotyczny genotyp PIA1A1, który stwierdzano u 71,6% badanych chorych. Heterozygotyczny genotyp PIA1A2 występował u 26,3% chorych, a najrzadziej obserwowano genotyp PIA1A1, który występował tylko u 2,1% badanych. Nie obserwowano istotnych statystycznie różnic tak w częstości występowania poszczególnych genotypów, jak i alleli pomiędzy grupami badanych mężczyzn i kobiet (tab. 15).

Tabela 15. Zestawienie częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu Leu33/Pro genu glikoproteiny płytkowej (PIA1/PIA2 GPIIb) w badanej grupie chorych

Genotyp	Cała grupa badana (N=1007)	Płeć	
		Kobiety (N=392)	Mężczyźni (N=615)
PIA2A2	2.1% (21)	2,3% (9)	2,0% (12)
PIA1A2	26.3% (265)	23,0% (90)	28,5% (175)
PIA1A1	71.6% (721)	74,7% (293)	69,5% (428)
<i>Allel</i>	2N=2014	2N=784	2N=1230
PIA2	15% (307)	13,8% (108)	16,2% (199)
PIA1	85% (1707)	85,2% (676)	83,8% (1031)

W Tabeli 16 przedstawiono wyniki analizy polimorfizmu G460W genu alfa-adducyny. Badania przeprowadzono łącznie na grupie 1015 osób, wśród których było 396 kobiet i 619 mężczyzn. Najczęściej obserwowanym genotypem był homozygotyczny genotyp GG, który wystąpił u 68,9% badanych chorych. Heterozygotyczny genotyp GW obserwowano u 27,7% chorych, a najrzadziej obserwowano genotyp WW, który występował tylko u 3,5% badanych osób. Kiedy porównano częstości genotypów w grupie mężczyzn i kobiet, stwierdzono statystycznie wyższą częstość występowania genotypu WW u mężczyzn ($p < 0.02$).

Tabela 16. Zestawienie częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu G460W genu alfa-adducyny w badanej grupie chorych

Genotyp	Cała grupa badana (N=1015)	Płeć	
		Kobiety (N=396)	Mężczyźni (N=619)
GG	68.9% (699)	70,2% (278)	68,0% (421)
GW	27.7% (281)	28,0% (111)	27.5% (170)
WW	3.45% (35)	1,8% (7)	4,5% (28)*
<i>Allel</i>	2N=2030	2N=792	2N=1238
G	83% (1679)	84,2% (667)	81,7% (1012)
W	17% (351)	15,8% (125)	18,3% (226)

* - chi2 – p=0,0189

W Tabeli 17 przedstawiono wyniki uzyskane dla analizy wykonanej dla polimorfizmu C825T genu podjednostki beta białka G. Badania przeprowadzone zostały łącznie na grupie 1016 osób, wśród których było 401 kobiet i 615 mężczyzn. Najczęściej obserwowanym genotypem był homozygotyczny genotyp CC, który wystąpił u 51,2% badanych chorych. Heterozygotyczny genotyp CT obserwowano u 40,6% chorych, a najrzadziej obserwowano genotyp TT, który występował u 8,2% badanych osób. Kiedy porównano częstości genotypów w grupie mężczyzn i kobiet, stwierdzono statystycznie wyższą częstość występowania genotypu CC u chorych mężczyzn w stosunku do obserwowanej w grupie kobiet ($p < 0,05$). Częstość występowania alleli nie różniła się pomiędzy porównywanymi grupami.

Tabela 17. Zestawienie częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu C825T genu podjednostki beta białka G w badanej grupie chorych

Genotyp	Cała grupa badana (N=1016)	Płeć	
		Kobiety (N=401)	Mężczyźni (N=615)
TT	8.2% (83)	8,2% (33)	8,1% (50)
CT	40.6% (413)	44,4% (178)	38,2% (235)
CC	51.2% (520)	47,4% (190)	53,7% (330)*
<i>Allel</i>	2N=1032	2N=802	2n=1230
T	28% (579)	30,4% (244)	27,2% (335)
C	72% (1453)	69,6% (558)	82,8% (895)

*chi2 - p=0.05

4.1.5 Analiza zgodności częstości występowania badanych polimorfizmów z prawem Hardy-Weinberga

Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała, że rozkłady częstości wszystkich analizowanych w niniejszej pracy polimorfizmów genów nie wykazywały odchyień od prawa równowagi Hardy’ego-Weinberga (tab.18).

Tabela 18. Analiza zgodności rozkładu genotypów przedstawionych polimorfizmów z prawem równowagi Hardy-Weinberga

Polimorfizm	p*
<i>M235T AGT</i>	0.47
<i>I/D ACE</i>	0.46
<i>A1166C AT1R</i>	0.67
<i>C344T CYP11B2</i>	0.61
<i>ScaI ANP</i>	0.81
<i>PLA1/PLA2 GPIIIa</i>	0.55
<i>G460W ADD1</i>	0.30
<i>C825T GNB-3</i>	0.93

*(p > 0.05 = zgodne w HWE)

4.2 Analiza związku występowania incydentów sercowo-naczyniowych z badanymi wariantami polimorficznymi genów

4.2.1 Wstęp

W kolejnych częściach pracy przedstawiono wyniki analizy statystycznej oceniającej związek poszczególnych polimorfizmów z wystąpieniem zdefiniowanych w niniejszej pracy punktów końcowych. Dla każdego polimorfizmu przedstawiono częstość występowania poszczególnych genotypów w zestawieniu z klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego. Ze względu na ilość punktów końcowych i otrzymanych wyników w poniższym opracowaniu przedstawiono wyniki analizy

związku każdego genotypu z głównym złożonym punktem końcowym, a także z wybranymi punktami końcowymi, w przypadku których stwierdzono istotną statystycznie zależność.

Liczebność podgrup związanych z oceną poszczególnych wariantów polimorficznych genów zwykle była mniejsza od liczebności całej grupy badanych chorych ze względu na trudności w uzyskaniu wiarygodnego wyniku analizy molekularnej dla wszystkich badanych genów.

4.2.2 Polimorfizm M235T genu angiotensynogenu (M235T AGT)

Częstość występowania genotypów i alleli polimorfizmu *M235T AGT* przedstawiono w rozdziale 4.1.4 w Tabeli 10.

W tabeli 19 przedstawiono rozkład genotypów polimorfizmu *M235T* genu angiotensynogenu w zestawieniu z klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego, takimi jak wiek pacjenta, BMI, nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, poziom cholesterolu i palenie papierosów. Nie wykazano związku genotypów TT, MT i MM z klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego.

Tabela 19. Zestawienie klasycznych czynników ryzyka z częstością występowania genotypów polimorfizmu M235T AGT

Czynnik ryzyka	TT	MT	MM	p
Wiek (lata)	63.5±9.1	63.4±9.0	62.6±9.4	0.707
BMI	27.9±4.3	27.9±3.8	28.3±4.3	0.529
Nadciśnienie tętnicze	79.01%	83.40%	78.95%	0.215
Cukrzyca	17.47%	24.49%	22.63%	0.082
Cholesterol całkowity (mg%)	198±48.3	205.1±53.3	207.7±52.5	0.156
Palenie papierosów	13.10%	7.26%	12.35%	0.234

W tabeli 20 przedstawiono rozkład częstości występowania genotypów polimorfizmu *M235T* genu angiotensynogenu w zestawieniu z głównym złożonym punktem końcowym. Przeprowadzona analiza statystyczna nie wykazała różnic w częstości występowania tego incydentu w grupach chorych o odmiennych genotypach ($p=0.435$). Analiza obliczonego ilorazu szans nie wykazała wpływu odziedziczenia

określonego allele lub genotypu na ryzyko wystąpienia głównego punktu końcowego (Tabela 21. Iloraz szans wystąpienia głównego punktu końcowego (MACE) w zestawieniu z genotypami polimorfizmu M235T AGT).

Tabela 20. Zestawienie częstości występowania głównego punktu końcowego (MACE) z genotypami polimorfizmu M235T AGT w badanej grupie

Genotyp	Chorzy z incydem	Chorzy bez incydemu
TT	27.4% (114)	37.3% (155)
MT	50.2% (209)	67.5% (281)
MM	22.4% (93)	36.1% (150)
p=0.435		

Tabela 21. Iloraz szans wystąpienia głównego punktu końcowego (MACE) w zestawieniu z genotypami polimorfizmu M235T AGT

Model	OR	CI	P
TTvsMT+MM	0.79	95%CI= 0.57 - 1.1	0.166
MMvsMT+TT	1.07	95%CI= 0.79 - 1.46	0.65

Zawał mięśnia sercowego bez uniesienia odcinka ST (NSTEMI)

Wyniki analizy statystycznej, w której poszukiwano zależności pomiędzy występowaniem poszczególnych genotypów i alleli genu AGT a punktem końcowym NSTEMI (Zawał mięśnia sercowego bez uniesienia odcinka ST) przedstawiono w tabelach 22-24. Stwierdzono, że u chorych z zawałem NSTEMI, statystycznie częściej, w porównaniu do chorych bez takiego zdarzenia, występował genotyp TT (Tabela 22. Zestawienie częstości występowania punktu końcowego NSTEMI z genotypami polimorfizmu M235T AGT. W grupie pacjentów będących nosicielami genotypu TT ryzyko wystąpienia zawału NSTEMI było prawie trzykrotnie większe niż u pozostałych pacjentów (OR = 2,8, p= 0,09).

Tabela 22. Zestawienie częstości występowania punktu końcowego NSTEMI z genotypami polimorfizmu M235T AGT

Genotyp	Chorzy z incydem	Chorzy bez incydemu
TT	50% (13)	26.2% (256)
MT	30.8% (8)	49.4% (482)
MM	19.2% (5)	24.4% (238)

		p=0.025
--	--	----------------

Tabela 23 Zestawienie częstości występowania punktu końcowego NSTEMI z genotypami polimorfizmu M235T AGT (kombinacje)

Wariant	Chorzy z incydem	Chorzy bez incydem
TT	50% (13)	26.2% (256)
MT+MM	50% (13)	73.8% (721)
		p=0.007
MM	19.2%(5)	24.4%(239)
MT+TT	80.8%(21)	75.6%(738)
		p=0.545

Tabela 24. Iloraz szans wystąpienia punktu końcowego NSTEMI w zestawieniu z genotypami polimorfizmu M235T AGT

Model	OR	CI	p
TTvsMT+MM	2.81	95%CI=1.28 - 6.144	0.09
MMvs MT+TT	0.47	95%CI=0.07 - 1.72	0.283

W przypadku pozostałych uwzględnionych w badaniu punktów końcowych nie stwierdzono istotnych statystycznie zależności.

4.2.3 Polimorfizm insercyjno/delecyjny genu enzymu konwertującego angiotensynę I (I/D ACE)

Rozkład częstości genotypów i alleli polimorfizmu I/D ACE przedstawiono w rozdziale 4.1.4 w tabeli Tabela 11.

W tabeli 25 przedstawiono rozkład genotypów polimorfizmu *I/D ACE* w zestawieniu z klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego. W przypadku nadciśnienia tętniczego stwierdzono tendencję do częstszego występowania nadciśnienia tętniczego u nosicieli wariantu DD badanego polimorfizmu. W przypadku chorych z genotypem DD u 85,3% osób występowało nadciśnienie tętnicze, podczas gdy u osób z genotypem II wystąpiło u 77% chorych (p=0.079). W przypadku

pozostałych klasycznych czynników ryzyka nie stwierdzono związku z występowaniem określonych genotypów.

Tabela 25. Zestawienie klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego z poszczególnymi genotypami polimorfizmu I/D ACE

Czynnik ryzyka	DD	ID	II	p
Wiek (lata)	63.6±8.8	63.3±9.1	63.1±9.2	0.773
BMI (kg/m ²)	28.3±4.0	27.9±4.0	27.8±4.4	0.329
Nadciśnienie tętnicze	85.31%	80.49%	77.04%	0.079
Cukrzyca	18.55%	23.58%	21.27%	0.309
Cholesterol całkowity (mg%)	207.4±48	201.4±53	205.6±51	0.564
Palenie papierosów	10.67%	10.29%	6.59%	0.234

W poniższych tabelach porównano częstości występowania poszczególnych genotypów polimorfizmu I/D ACE u osób z występowaniem głównego złożonego punktu końcowego (ostra zespół wieńcowy, udar mózgu, zgon) z osobami u których tego punktu nie obserwowano. Nie stwierdzono różnic w częstości występowania głównego złożonego punktu końcowego u osób z różnymi genotypami.

Tabela 26. Zestawienie częstości występowania głównego złożonego punktu końcowego (MACE) z genotypami polimorfizmu I/D ACE w badanej grupie

Genotyp	Chorzy z incydemem	Chorzy bez incydemu
DD	22.1% (92)	31% (129)
ID	51.7% (215)	70.7% (294)
II	26.2% (109)	38.2% (159)
p=0.915		

Tabela 27. Iloraz szans wystąpienia głównego złożonego punktu końcowego (MACE) w zestawieniu z poszczególnymi genotypami polimorfizmu I/D ACE

Model	OR	CI	p
II vs ID+DD	0.98	95%CI= 0.57 - 1.33	0.888
DD vs ID+II	1.13	95%CI= 0.81 - 1.57	0.458

Częstości występowania poszczególnych genotypów nie różniły się między sobą w kontekście ryzyka wystąpienia złożonego punktu końcowego (ostra zespół wieńcowy/udar/zgon) zarówno w modelu recesywnym (DD vs ID + II) jak i dominującym (II vs ID+DD).

Zawał mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST (STEMI)

Poniżej przedstawiono wyniki analizy zależności częstości występowania zawału mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST (STEMI) i występowania poszczególnych genotypów polimorfizmu *I/D ACE*.

Tabela 28. Zestawienie częstości wystąpienia złożonego punktu końcowego STEMI z genotypami polimorfizmu *I/D ACE*

Genotyp	Chorzy z incydemem	Chorzy bez incydentu
DD	27.6% (45)	21.1% (176)
ID	47.9% (78)	51.6% (431)
II	24.5% (40)	27.3% (228)
p=0.183		

Tabela 29. Zestawienie częstości wystąpienia punktu końcowego STEMI z genotypami polimorfizmu *I/D ACE* (kombinacje)

Wariant	Chorzy z incydemem	Chorzy bez incydentu
DD	28.5% (45)	20.7% (170)
ID+II	71.5% (113)	79.3% (650)
		p=0.031
II	24.4%(40)	27.3%(228)
ID+DD	75.6%(124)	72.7%(607)
		p=0.562

Tabela 30. Iloraz szans wystąpienia punktu końcowego STEMI w zestawieniu z genotypami polimorfizmu *I/D ACE* w badanej grupie

Model	OR	CI	p
DD vs ID+II	1.52	95%CI= 1.03 - 2.23	p= 0.032
II vs ID+DD	0.89	95%CI= 0.60 - 1.31	p= 0.561

W badanej grupie stwierdzono znamienne częstsze występowanie ($p=0.032$) zawału STEMI u pacjentów będących homozygotami DD. Iloraz szans dla modelu DD vs. ID+II wynosił 1.52.

W przypadku pozostałych uwzględnionych w badaniu punktów końcowych nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w częstości ich wystąpienia między poszczególnymi genotypami.

4.2.4 Polimorfizm A1166C genu receptora dla angiotensyny II typu 1 (A1166C AT1R)

Rozkład częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu *A1166C AT1R* przedstawiono w rozdziale 4.1.4 w tabeli 12.

W tabeli 31 przedstawiono rozkład genotypów w zestawieniu z klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego.

Tabela 31. Zestawienie klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego z genotypami polimorfizmu A1166C AT1R w badanej grupie

Czynnik ryzyka	AA	AC	CC	p
Wiek	63.3±9.1	62.9±9.2	63.9±8.9	0.45
BMI	27.8±3.9	28.0±4.2	28.4±4.1	0.788
Nadciśnienie tętnicze	79.19%	82.70%	80.46%	0.420
Cukrzyca	20.19%	23.11%	27.59%	0.238
Cholesterol całkowity (mg%)	202.5±54	207±46	206.1±53	0.512
Palenie papierosów	10.36%	10.7%	12.1%	0.955

Nie stwierdzono znamienych statystycznie różnic pomiędzy poszczególnymi analizowanymi genotypami.

Główny punkt końcowy (ostra zespół wieńcowy, udar mózgu, zgon)

W tabeli 32 przedstawiono wyniki analizy zależności częstości występowania głównego złożonego punktu końcowego (ostra zespół wieńcowy, udar mózgu, zgon) od genotypu wariantu polimorficznego A1166C genu AT1R.

Tabela 32. Zestawienie częstości występowania głównego złożonego punktu końcowego (MACE) z genotypami polimorfizmu A1166C AT1R w badanej grupie

Genotyp	Chorzy z incydemem	Chorzy bez incydemu
AA	49.4% (210)	52.3% (310)
AC	40.7% (173)	40.1% (238)
CC	9.9% (42)	7.6% (45)
p=0.205		

Nie wykazano różnic w częstości występowania głównego złożonego punktu końcowego w zależności od genotypu wariantu polimorficznego *A1166C AT1R* genu receptora angiotensyny II typu 1.

W poniższej tabeli (Tabela 33) przedstawiono iloraz szans wystąpienia złożonego punktu końcowego dla poszczególnych wariantów homozygotycznych w zestawieniu z resztą grupy.

Tabela 33. Iloraz szans wystąpienia głównego złożonego punktu końcowego w zestawieniu z genotypami polimorfizmu A1166C AT1R w badanej grupie

Model	OR	CI	p
AA vs AC+CC	0.96	95%CI= 0.81 - 1.26	0.758
CC vs AC+AA	1.01	95%CI= 0.61 - 1.62	0.982

W przypadku pozostałych analizowanych punktów końcowych nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy poszczególnymi wariantami polimorficznymi w badanej grupie.

4.2.5 Polimorfizm C344T genu syntazy aldosteronu (C344T CYP11B2)

Częstość występowania poszczególnych genotypów i alleli polimorfizmu C344T CYP11B2 przedstawiono w rozdziale 4.14 w tabeli 13.

W tabeli 34 przedstawiono zestawienie genotypów z klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego:

Tabela 34. Zestawienie klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego z genotypami polimorfizmu C344T CYP11B2 w badanej grupie

Czynnik ryzyka	TT	TC	CC	p
Wiek (lata)	63.2±8.9	63.3±9.2	63.4±8.8	0.169
BMI (kg/m ²)	28.2±4	27.9±4.2	27.9±4.0	0.329
Nadciśnienie tętnicze	81.37%	79.63%	82.94%	0.575
Cukrzyca	25.27%	22.35%	17.43%	0.110
Cholesterol całkowity (mg%)	203.5±45.8	204.6±56.4	203.7±47	0.968
Palenie papierosów	12.37%	6.32%	13.75%	0.102

Nie stwierdzono istotnego statystycznie związku pomiędzy występowaniem genotypów a klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego.

Główny punkt końcowy (Ostry zespół wieńcowy, Udar mózgu, zgon)

W tabeli 35 przedstawiono rozkład genotypów polimorfizmu *C344T CYP11B2* u badanych pacjentów w zestawieniu z głównym złożonym punktem końcowym (ostry zespół wieńcowy, udar mózgu, zgon)

Tabela 35. Zestawienie częstości występowania głównego złożonego punktu końcowego (MACE) z genotypami polimorfizmu C344T CYP11B2

Genotyp	Chorzy z incydemem	Chorzy bez incydentu
TT	26.1% (110)	29.1% (171)
TC	53.7% (226)	48.3% (284)
CC	20.2% (85)	22.6% (133)
p=0.241		

Tabela 36. Iloraz szans wystąpienia głównego złożonego punktu końcowego (MACE) w zestawieniu z genotypami polimorfizmu C344T CYP11B2

Model	OR	CI	p
TT vs TC+CC	0.86	95%CI= 0.35 - 1.17	0.333
CC vs TC+TT	0.85	95%CI= 0.6 - 1.2	0.359

Poszczególne genotypy polimorfizmu *C344T CYP11B2* nie wykazują związku z wystąpieniem głównego złożonego punktu końcowego.

W przypadku pozostałych punktów końcowych nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy poszczególnymi wariantami polimorficznymi w badanej grupie.

4.2.6 Polimorfizm T2238C genu przedsionkowego peptydu natriuretycznego (*ScaI* A2/A1 ANP)

Rozkład częstości występowania poszczególnych genotypów i alleli polimorfizmu *ScaI* A2/A1 ANP przedstawiono w rozdziale 4.1.4 w tabeli 14.

W tabeli Tabela 37 przedstawiono zestawienie częstości występowania poszczególnych genotypów polimorfizmu *ScaI* A2/A1 ANP z uwzględnieniem klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego. Nie obserwowano statystycznie istotnych różnic pomiędzy występowaniem u chorych odmiennych genotypów a takimi czynnikami ryzyka jak: wiek, nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, poziom całkowity cholesterolu we krwi oraz palenie papierosów ($p>0,05$). Zaobserwowano natomiast, że pacjenci z genotypem A1A1 mieli znacząco wyższą średnią wartość BMI, w stosunku do chorych z innymi genotypami. Istotna statystycznie była również różnica mediany BMI pomiędzy grupą pacjentów z genotypem A1A1 a resztą badanej populacji ($p<0.016$).

Tabela 37. Zestawienie klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego z genotypami polimorfizmu *ScaI* A1/A2 ANP

Czynnik ryzyka	A2A2	A2A1	A1A1	p
Wiek	63.0±9.0	63.6±9.3	61.1±8.5	0.700
BMI	28.0±4.1	27.7±4.1	30.8±3.7	0.016*
Nadciśnienie tętnicze	80.24%	82.03%	87.50%	0.663
Cukrzyca	22.74%	19.21%	33.33%	0.272

Cholesterol całkowity (mg%)	204.7±51.8	205.3±52.4	199.1±44.8	0.905
Palenie papierosów	11.36%	7.95%	16.67%	0.593

*test ANOVA, test Kruskala-Wallisa (p=0.01)

Główny punkt końcowy (Ostry zespół wieńcowy, udar mózgu, zgon)

W Tabeli 38 przedstawiono rozkład genotypów polimorfizmu *ScaI A2/A1 ANP* u badanych pacjentów w zestawieniu z głównym złożonym punktem końcowym (ostry zespół wieńcowy, udar mózgu, zgon)

Tabela 38. Zestawienie częstości występowania głównego złożonego punktu końcowego (MACE) z genotypami polimorfizmu *ScaI A1/A2 ANP* w badanej grupie

Genotyp	Chorzy z incydem	Chorzy bez incydem
A2A2	74.9% (319)	76.5% (455)
A2A1	23.7% (101)	21.5% (128)
A1A1	1.4% (6)	2.0% (12)
p=0.566		

Tabela 39. Iloraz szans wystąpienia głównego złożonego punktu końcowego (MACE) w zestawieniu z genotypami polimorfizmu *ScaI A1/A2 ANP* w badanej grupie

Model	OR	CI	p
A1A1 vs A2A1+A2A2	0.5	95%CI= 0.9 - 1.55	0.252
A2A2 vs A2A1+A1A1	0.93	95%CI= 0.68 - 1.28	0.655

Nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności między wystąpieniem głównego złożonego punktu końcowego a poszczególnymi genotypami polimorfizmu *ScaI A2/A1 ANP*.

Zawał mięśnia sercowego bez uniesienia odcinka ST (NSTEMI)

Poniżej przedstawiono zestawienie częstości występowania zawału mięśnia sercowego bez uniesienia odcinka ST (NSTEMI) u pacjentów z poszczególnymi genotypami polimorfizmu *ScaI A2/A1 ANP*.

Tabela 40. Częstość występowania punktu końcowego NSTEMI w zestawieniu z genotypami polimorfizmu ScaI A1/A2 ANP

Genotyp	Chorzy z incydemem	Chorzy bez incydemu
A2A2	92.6% (25)	75.4% (749)
A2A1	7.4% (2)	22.8% (227)
A1A1	0% (0)	1.8% (18)
		p=0.116

Tabela 41. Zestawienie częstości występowania punktu końcowego NSTEMI i genotypów polimorfizmu ScaI A1/A2 ANP (kombinacje)

Wariant	Chorzy z incydemem	Chorzy bez incydemu
A1A1	0%(0)	2.9%(18)
A2A1+A2A2	100%(27)	97.1%(957)
		p=0.476
A2A2	92.6% (25)	75.3%(734)
A2A1+A1A1	7.4%(2)	24.7%(241)
		p=0.038

Tabela 42. Iloraz szans wystąpienia punktu końcowego NSTEMI w zestawieniu z genotypami polimorfizmu ScaI A1/A2 ANP

Model	OR	CI	p
A1A1vsA1A2+A2A2	0.94	95%CI= 0.05 - 16.01	0.96
A2A2vsA1A2+A1A1	4.10	95%CI= 0.965 - 17.45	0.055

W badanej grupie chorych pacjenci z genotypem A2A2 znacząco częściej przechodzili zawał mięśnia sercowego NSTEMI w okresie prospektywnej obserwacji. Na uwagę zasługuje jednak niska liczebność grupy pacjentów z genotypem A1A1.

4.2.7 Polimorfizm Leu33/Pro genu glikoproteiny płytkowej (PIA1/PIA2 GPIIIa)

Rozkład częstości występowania poszczególnych genotypów i alleli polimorfizmu ScaI A2/A1 ANP przedstawiono w rozdziale 4.1.4, tabeli 15.

Poniżej (Tabela 43) przedstawiono zestawienie częstości występowania poszczególnych genotypów z klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego.

Tabela 43. Zestawienie klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego z genotypami polimorfizmu PIA1/A2 GPIIIa

Czynnik ryzyka	PIA2A2	PIA1A2	PIA1A1	p
Wiek	61.4±8.2	64.2±8.8	62.8±9.2	0.550
BMI	28.8±4.3	27.9±4.1	28.0±4.1	0.601
Nadciśnienie tętnicze	78.95%	82.94%	80.03%	0.593
Cukrzyca	28.57%	20.75%	22.64%	0.641
Cholesterol całkowity (mg%)	194.5±73.8	201.7±51.7	205.3±50	0.523
Palenie papierosów	33.33%	9.76%	10.61%	0.428

Nie stwierdzono istotnego statystycznie związku genotypów polimorfizmu *PIA1/A2 GPIIIa* z klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego.

Główny złożony punkt końcowy (ostry zespół wieńcowy, udar mózgu, zgon)

Tabela 44. Częstość występowania głównego złożonego punktu końcowego (MACE) w zestawieniu z genotypami polimorfizmu PIA1/PIA2 GPIIIa

Genotyp	Chorzy z incydemem	Chorzy bez incydemu
PIA2A2	1.9% (8)	2.2% (13)
PIA2A1	26.9% (113)	25.9% (152)
PIA1A1	71.2% (299)	71.8% (421)
p=0.897		

Tabela 45. Iloraz szans występowania głównego złożonego punktu końcowego w zestawieniu z genotypami polimorfizmu *PIA1/PIA2 GPIIIa*

Model	OR	CI	p
A1A1 vs A1A2+A2A2	0.95	95%CI= 0.68 - 1.29	0.723
A2A2 vs A2A1+A1A1	1.01	95%CI= 0.35 - 2.54	0.984

W badanej grupie nie stwierdzono znamiennego statystycznie związku pomiędzy poszczególnymi genotypami a głównym złożonym punktem końcowym.

W przypadku pozostałych punktów końcowych również nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w częstości występowania poszczególnych genotypów polimorfizmu *PIA1/A2 GPIIIa*.

4.2.8 Polimorfizm G460W genu alfa adducyny (G460W *ADD1*)

Zestawienie częstości występowania poszczególnych genotypów i alleli polimorfizmu *G460W ADD1* przedstawiono w rozdziale 4.1.4, tabeli 16.

Poniżej przedstawiono zestawienie częstości występowania poszczególnych genotypów polimorfizmu *G460W ADD1* w powiązaniu z klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego.

Tabela 46. Zestawienie klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego z genotypami polimorfizmu *G460W ADD1*

Czynnik ryzyka	GG	GW	WW	p
Wiek	63.0±8.9	63.1±9.5	65.7±9.2	0.142
BMI	28.1±4.2	27.8±4.2	28.1±4.2	0.650
Nadciśnienie tętnicze	79.67%	83.21%	84.85%	0.386
Cukrzyca	20.63%	25.62%	20.00%	0.224
Cholesterol całkowity (mg%)	205.2±53.0	203.1±47.2	185.9±48.5	0.179
Palenie papierosów	12.30%	6.19%	11.11%	0.254

Główny punkt końcowy (ostry zespół wieńcowy, udar mózgu, zgon)

W Tabeli 47 przedstawiono rozkład częstości występowania genotypów polimorfizmu *G460W ADD1* u badanych pacjentów w zestawieniu z głównym złożonym punktem końcowym (ostry zespół wieńcowy, udar mózgu, zgon)

Tabela 47. Zestawienie częstości występowania głównego złożonego punktu końcowego (MACE) z genotypami polimorfizmu *G460W ADD1*

Genotyp	Chorzy z incydemem	Chorzy bez incydemu
GG	67.5% (284)	69.8% (414)
GW	28.7% (121)	27.0% (160)
WW	3.8% (16)	3.2% (19)
p=0.695		

Iloraz szans wystąpienia głównego złożonego punktu końcowego w zależności od genotypu polimorfizmu *G460W ADD1* przedstawiono w tabeli 48.

Tabela 48. Iloraz szans dla wystąpienia głównego złożonego punktu końcowego w zestawieniu z genotypami polimorfizmu *G460W ADD1*

Model	OR	CI	p
WW vs GW+GG	1.19	95%CI= 0.60 - 2.34	p=0.609
GG vs GW+WW	0.89	95%CI= 0.68 - 1.17	p= 0.425

W badanej grupie nie stwierdzono znamiennej statystycznie zależności pomiędzy poszczególnymi genotypami a głównym złożonym punktem końcowym.

Zawał mięśnia sercowego bez uniesienia odcinka ST (NSTEMI)

W badanej grupie stwierdzono znamiennej statystycznie różnicę w częstości występowania zawału mięśnia sercowego bez uniesienia odcinka ST (NSTEMI) w poszczególnych podgrupach genotypowych polimorfizmu *G460W ADD1*.

Tabela 49. Zestawienie częstości występowania punktu końcowego NSTEMI z genotypami polimorfizmu G460W ADD1

Genotyp	Chorzy z incydemem	Chorzy bez incydemu
GG	63.0% (17)	69.0% (681)
GW	25.9% (7)	27.8% (274)
WW	11.1% (3)	3.2% (32)
		p=0.008

Tabela 50. Zestawienie częstości występowania punktu końcowego NSTEMI z genotypami polimorfizmu G460W ADD1 (kombinacje)

Wariant	Chorzy z incydemem	Chorzy bez incydemu
GG	63%(17)	69%(681)
GW+WW	37% (10)	31%(306)
		p=0.504
WW	11.1% (3)	9.5%(32)
GW+GG	88.9%(24)	90.5%(955)
		p = 0.027

Tabela 51. Iloraz szans dla wystąpienia punktu końcowego NSTEMI w zestawieniu z genotypami polimorfizmu G460W ADD1

Model	OR	CI	p
GGvsGW+WW	0.76	95%CI= 0.345 - 1.687	0.505
WWvsGW+GG	3.73	95%CI= 1.06 - 13.03	0.039

W badanej grupie genotyp WW wiązał się z ponad 3-krotnie większym ryzykiem wystąpienia zawału mięśnia sercowego NSTEMI (Tabela 51).

W przypadku pozostałych złożonych i prostych punktów końcowych, nie znaleziono istotnych statystycznie różnic między grupami charakteryzującymi się poszczególnymi genotypami.

4.2.9 Polimorfizm C825T genu podjednostki beta-3 białka G (C825T GNB-3)

Rozkład częstości występowania poszczególnych genotypów i alleli polimorfizmu ScaI A2/A1 ANP przedstawiono w rozdziale 4.1.4, tabeli 17.

W tabeli 52 przedstawiono zestawienie częstości występowania poszczególnych genotypów z klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego:

Tabela 52. Zestawienie klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego z genotypami polimorfizmu C825T GNB-3 w badanej populacji

Czynnik ryzyka	CC	CT	TT	p
Wiek	63.0±9.1	63.3±9.2	64.4±8.7	0.862
BMI	27.9±4.4	28.0±3.8	28.8±4.0	0.169
Nadciśnienie tętnicze	80.77%	79.25%	87.18%	0.276
Cukrzyca	22.12%	21.84%	25.30%	0.782
Cholesterol całkowity (mg%)	207.0±54.5	201.0±47.8	204.8±49.7	0.321
Palenie papierosów	8.81%	12.78%	12.50%	0.493

Nie stwierdzono związku pomiędzy poszczególnymi genotypami polimorfizmu C825T GNB-3 a analizowanymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego.

Główny punkt końcowy (ostry zespół wieńcowy, udar mózgu, zgon)

W Tabeli 53 przedstawiono rozkład częstości występowania genotypów polimorfizmu C825T GNB-3 u badanych pacjentów w zestawieniu z głównym złożonym punktem końcowym (ostry zespół wieńcowy, udar mózgu, zgon).

Tabela 53. Zestawienie częstości występowania głównego złożonego punktu końcowego (MACE) z genotypami polimorfizmu C825T GNB-3 w badanej populacji

Genotyp	Chorzy z incydemem	Chorzy bez incydemu
CC	50.0% (210)	52.1% (310)
CT	40.7% (171)	40.5% (241)
TT	9.3% (39)	7.4% (44)
p=0.524		

Tabela 54. Iloraz szans dla wystąpienia głównego złożonego punktu końcowego (MACE) z genotypami polimorfizmu C825T GNB-3 w badanej populacji

Model	OR	CI	p
CC vs CT+TT	0.91	95%CI= 0.71 - 1.18	0.509
TT vs CT+CC	1.28	95%CI= 0.81 - 2.011	0.279

W badanej grupie nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między częstością poszczególnych genotypów polimorfizmu *C825T GNB-3* a występowaniem głównego złożonego punktu końcowego (Tabela 53, Tabela 54).

Dławica piersiowa niestabilna (UA)

W tabelach Tabela 55-Tabela 57 przedstawiono zestawienie częstości występowania poszczególnych genotypów polimorfizmu *C825T* podjednostki beta-3 białka G z częstością wystąpienia punktu końcowego definiowanego jako dławica piersiowa niestabilna.

Tabela 55. Zestawienie częstości występowania punktu końcowego UA z genotypami polimorfizmu C825T GNB-3 w badanej populacji

Genotyp	Chorzy z incydemem	Chorzy bez incydemu
CC	42.2% (51)	10.3% (49)
CT	47.1% (57)	74.9% (355)
TT	10.7% (13)	14.8% (70)
p=0.009		

Tabela 56. Zestawienie częstości występowania punktu końcowego UA z genotypami polimorfizmu C825T GNB-3 w badanej populacji (kombinacje)

Wariant	Chorzy z incydemem	Chorzy bez incydemu
TT	10.7% (13)	7.8% (70)
CT+CC	89.3% (108)	92.2% (824)
		p=0.272
CC	42.1% (51)	52.5% (469)
CT+TT	57.9% (70)	47.5% (425)
		p=0.033

Tabela 57. Iloraz szans dla wystąpienia punktu końcowego UA w zestawieniu z genotypami polimorfizmu C825T GNB-3 w badanej populacji

Model	OR	CI	p
TTvsCT+CC	1.41	95%CI= 0.75 - 2.64	0.274
CCvsCT+TT	0.66	95%CI= 0.449 - 0.969	0.034

W badanej grupie niestabilna dławica piersiowa występowała istotnie rzadziej u pacjentów z genotypem CC (OR=0.66). Jednocześnie, nosicielstwo allele T wiązało się z większym ryzykiem wystąpienia niestabilnej dławicy piersiowej.

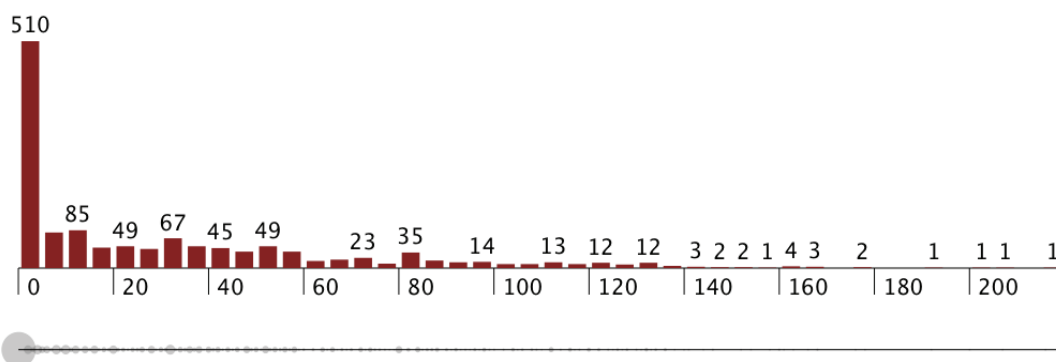
W przypadku pozostałych złożonych i prostych punktów końcowych, nie znaleziono istotnych statystycznie różnic między grupami charakteryzującymi się poszczególnymi genotypami.

4.3 Analiza zależności zaawansowania choroby wieńcowej ocenianej w skali Gensini od wybranych wariantów polimorficznych genów

4.3.1 Wstęp

W badanej grupie wykonano analizę stopnia zaawansowania choroby wieńcowej na podstawie liczbowego wyniku angiograficznej skali oceny zmian w naczyniach wieńcowych Gensini Score.

Wartość średnia oceny zaawansowania miażdżycy naczyń wieńcowych w skali Gensini w badanej grupie wyniosła 30.7 pkt. (± 2.1). Wśród 37% pacjentów stwierdzono zerowy wynik punktowy w skali Gensini, oznaczający brak istotnych angiograficznie zmian w naczyniach wieńcowych. Rozkład wartości wyniku punktowego w skali Gensini w badanej populacji przedstawia następujący histogram:



Rysunek 11. Dystrybucja wartości Gensini Score w badanej populacji

Zaawansowanie zmian miażdżycowych ocenianych w skali Gensini było znamienne wyższe u mężczyzn w porównaniu z kobietami. ($p < 0.001$, Tabela 58)

Tabela 58. Średni wynik Gensini Score w badanej populacji w zależności od płci

Kobiety	Mężczyźni	p
22.3±2.9	36.1±2.7	p<0.001

W tabelach 59-74 przedstawiono zależności wyniku Gensini Score od występowania poszczególnych wariantów polimorficznych badanych genów.

W analizie zależności zastosowano test istotności Kruskala-Wallisa oraz analizę wariancji. Poniżej przedstawiono średnie wartości, odchylenie standardowe oraz medianę wyniku w skali Gensini a także zestawienie obliczeń zależności dla poszczególnych polimorfizmów.

4.3.2 Polimorfizm M235T genu angiotensynogenu (M235T AGT)

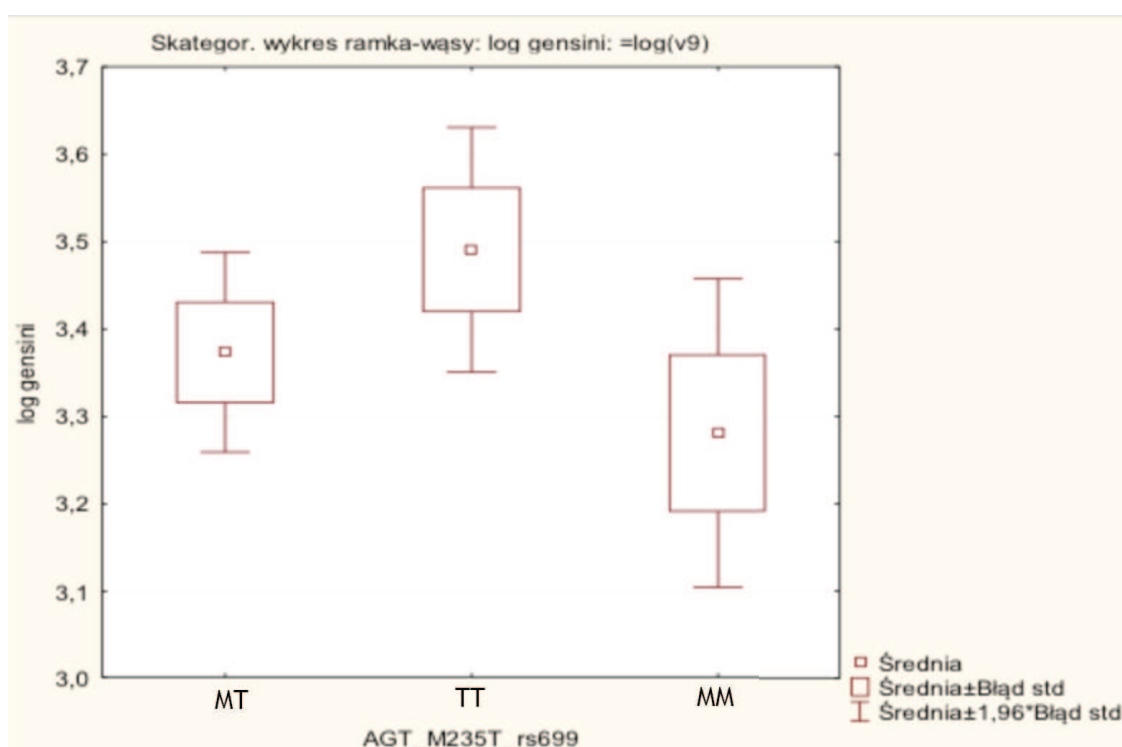
Poniżej przedstawiono porównanie średniej wartości punktowej w skali Gensini dla poszczególnych genotypów polimorfizmu M235T genu angiotensynogenu.

Tabela 59. Średni wynik Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu M235T AGT

Genotyp	średnia	Mediana
TT	31.5±36.2	18
MT	31.2±39.1	16
MM	29.7±38.7	14
		p =0.331

Tabela 60. Porównania dwustronne średnich wyników (wartości p) oraz analiza wariancji Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu M235T AGT

	MT	TT	MM
TM		0.78	1.0
TT	0.78		0.45
MM	1.0	0.45	
Analiza wariancji	p=0.182		



Rysunek 12. Wykres ramka-wąsy dla średnich wartości Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu M235T AGT (wyniki zlogarytmizowane)

W przeprowadzonej analizie nie znaleziono istotnych różnic pomiędzy średnimi wynikami skali Gensini u osób z poszczególnymi wariantami genotypowymi polimorfizmu M235T genu angiotensynogenu (Rysunek 12, Tabele 59-60)

4.3.3 Polimorfizm insercyjno/delecyjny genu enzymu konwertującego angiotensynę I (I/D ACE)

W tabeli 61 przedstawiono porównanie średniej wartości punktowej w skali Gensini dla poszczególnych genotypów polimorfizmu insercyjno/delecyjnego genu enzymu konwertującego angiotensynę I.

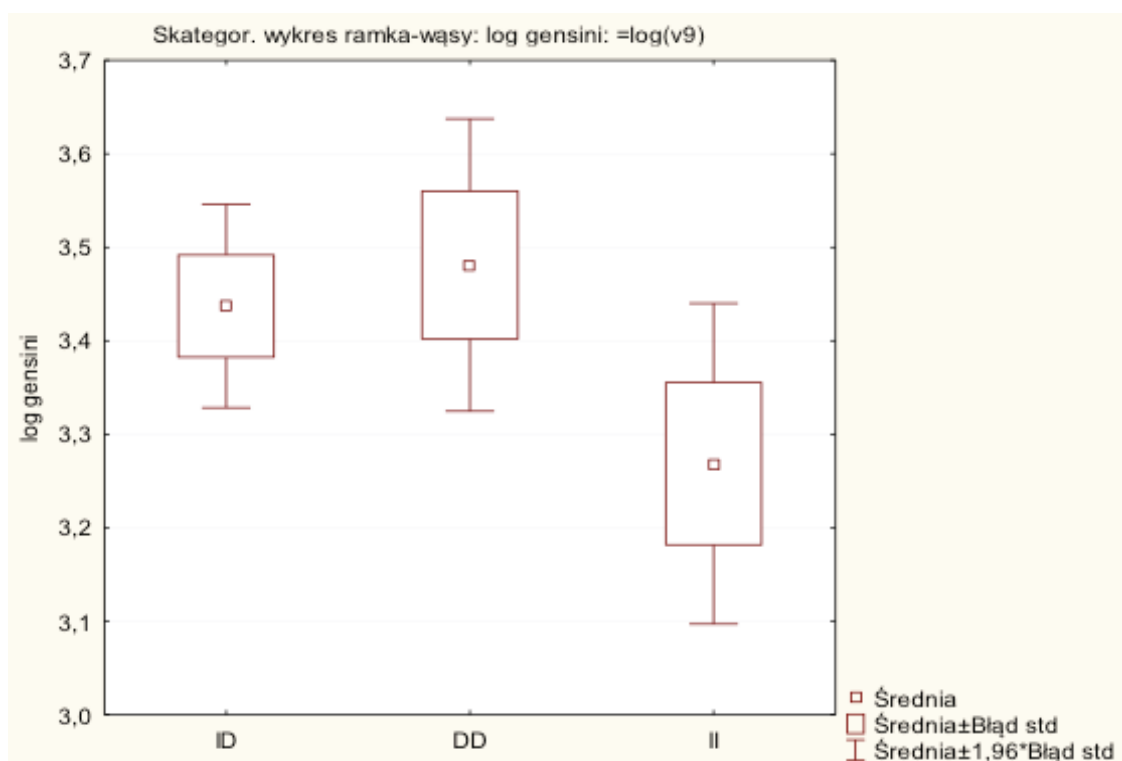
Tabela 61 Średni wynik Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu I/D ACE

Genotyp	średnia	mediana
DD	32.1±35.6	20
ID	31.7±39.0	17
II	30.7±41.1	12
		p=0.257

Różnice pomiędzy poszczególnymi podgrupami nie były istotne statystycznie

Tabela 62. Porównania dwustronne średnich wyników (wartości p) oraz analiza wariancji Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu I/D ACE

	ID	DD	II
ID		1.00	0.58
DD	1.0		0.35
II	0.58	0.35	
Analiza wariancji	p=0.13		



Rysunek 13. Wykres ramka-wąsy dla średnich wartości Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu I/D ACE (wyniki zlogarytmizowane)

W przeprowadzonej analizie nie znaleziono istotnych różnic pomiędzy średnimi wynikami skali Gensini u osób z poszczególnymi wariantami genotypowymi polimorfizmu insercyjno-delecyjnego genu enzymu konwertującego angiotensynę (Tabela 62, Rysunek 13)

4.3.4 Polimorfizm A1166C genu receptora dla angiotensyny II typu 1 (A1166C AT1R)

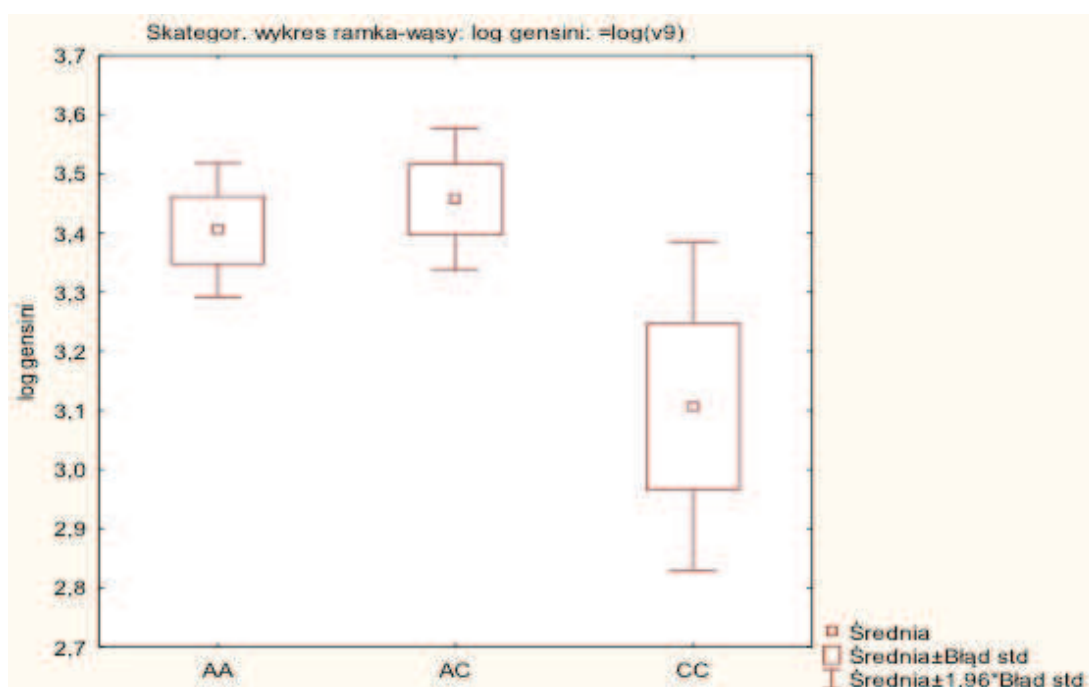
W tabeli 63 przedstawiono porównanie średniej wartości punktowej w skali Gensini dla poszczególnych genotypów polimorfizmu genu receptora dla angiotensyny II typu 1 (*A1166C AT1R*).

Tabela 63. Średni wynik Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu A1166C AT1R

Genotyp	średnia	mediana
AA	30.6±39.2	14
AC	33.8±40.2	20
CC	25.7±29.5	14
		p=0.089

Tabela 64. Porównania dwustronne średnich wyników (wartości p) oraz analiza wariancji Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu A1166C AT1R

	AA	AC	CC
AA		1.00	0.17
AC	1.00		0.08
CC	0.17	0.08	
Analiza wariancji	p=0.06		



Rysunek 14. Wykres ramka-wąsy dla średnich wartości Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu A1166C AT1R

W wykonanej analizie wariancji można dostrzec tendencję do niższego zaawansowania miażdżycy tętnic wieńcowych ocenianego Gensini Score u pacjentów z wariantem CC ($p=0.06$) (Tabela 64, Rysunek 14).

4.3.5 Polimorfizm C344T genu syntazy aldosteronu (C344T CYP11B2)

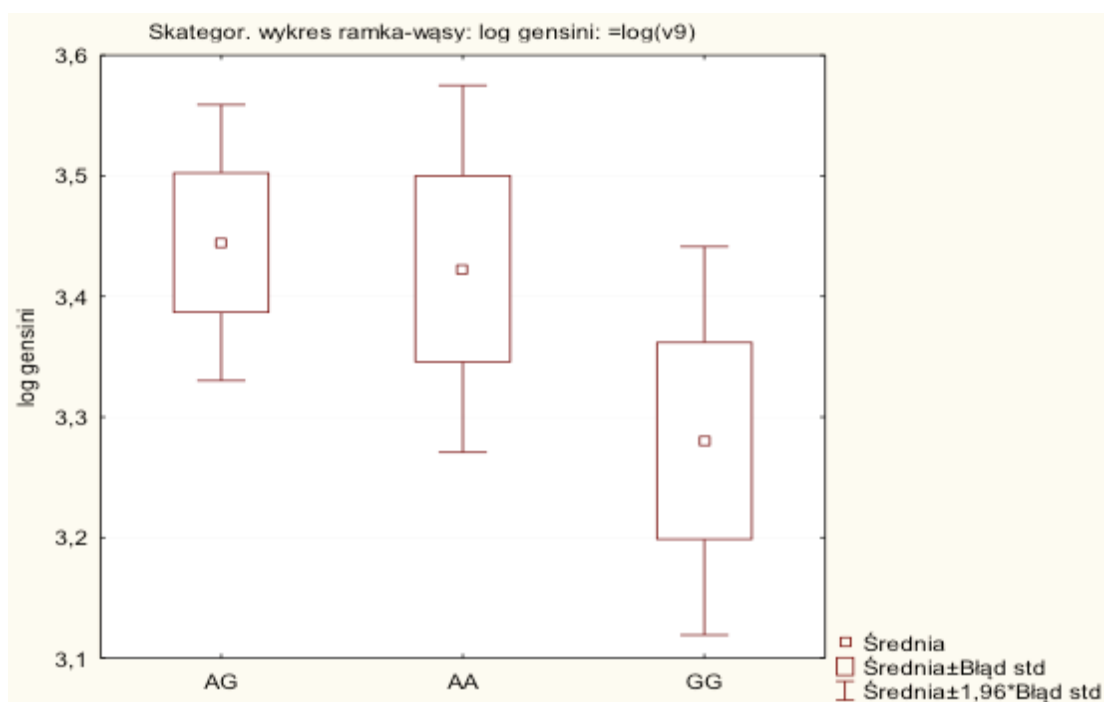
W tabeli 65 przedstawiono porównanie średniej wartości punktowej w skali Gensini dla poszczególnych genotypów polimorfizmu genu syntazy aldosteronu (C344T CYP11B2).

Tabela 65. Średni wynik Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu C344T CYP11B2

Wariant	średnia	mediana
TT	33.6±41.4	19
TC	32.4±39.8	16
CC	27.5±33.8	16
		p =0.133

Tabela 66. Porównania dwustronne średnich wyników (wartości p) oraz analiza wariancji Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu C344T CYP11B2

	AG	AA	GG
TC		1.0	0.14
TT	1.0		0.35
CC	0.14	0.35	
Analiza wariancji	p=0.27		



*GG=CC,AA=TT,AG=TC

Rysunek 15. Wykres ramka-wąsy dla średnich wartości Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu C344T CYP11B2

W przeprowadzonej analizie nie znaleziono istotnych różnic pomiędzy średnimi wynikami skali Gensini u pacjentów z poszczególnymi wariantami polimorfizmu C344T genu syntazy aldosteronu (CYP11B2) (Tabela 66, Rysunek 15).

4.3.6 Polimorfizm T2238C genu przedsionkowego peptydu natriuretycznego (ScaI A2/A1 ANP)

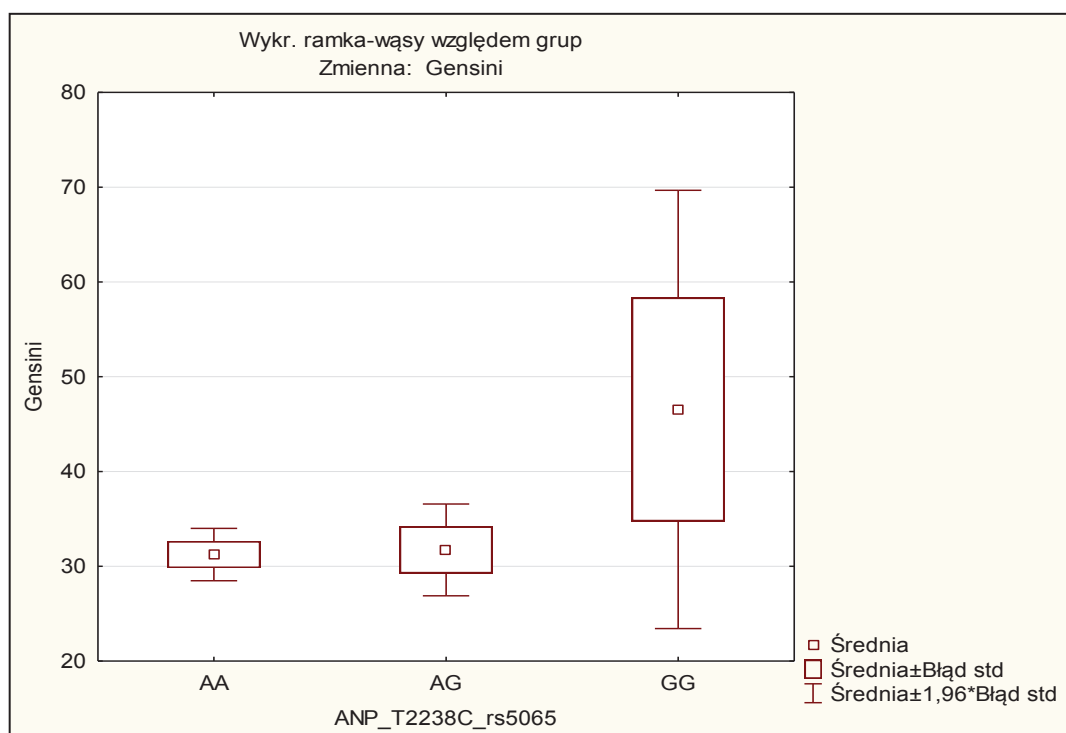
W tabeli 67 przedstawiono porównanie średniej wartości punktowej w skali Gensini dla poszczególnych genotypów polimorfizmu genu przedsionkowego peptydu natriuretycznego (*ScaI A2/A1 ANP*).

Tabela 67. Średni wynik Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu ScaI A2/A1 ANP

Wariant	średnia	mediana
A2A2	31.2±39.2	16
A2A1	31.7±37.3	16
A1A1	46.5±50.0	40
		p=0.133

Tabela 68. Porównania dwustronne średnich wyników (wartości p) oraz analiza wariancji Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu ScaI A2/A1 ANP

	A2A1	A2A2	A1A1
A2A1		1.0	0.14
A2A2	1.0		0.35
A1A1	0.14	0.35	
Analiza wariancji	p=0.27		



Rysunek 16. Wykres ramka-wąsy dla średnich wartości Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu ScaI A2/A1 ANP

*AA=A2A2,GG=A1A1,AG=A2A1

W powyższej analizie nie znaleziono istotnych różnic pomiędzy średnimi wynikami skali Gensini u pacjentów z poszczególnymi wariantami polimorfizmu T2238C genu przedsionkowego peptydu natriuretycznego (Tabela 68, Rysunek 16).

4.3.7 Polimorfizm Leu33/Pro genu glikoproteiny płytkowej (PIA1/PIA2 GPIIIa)

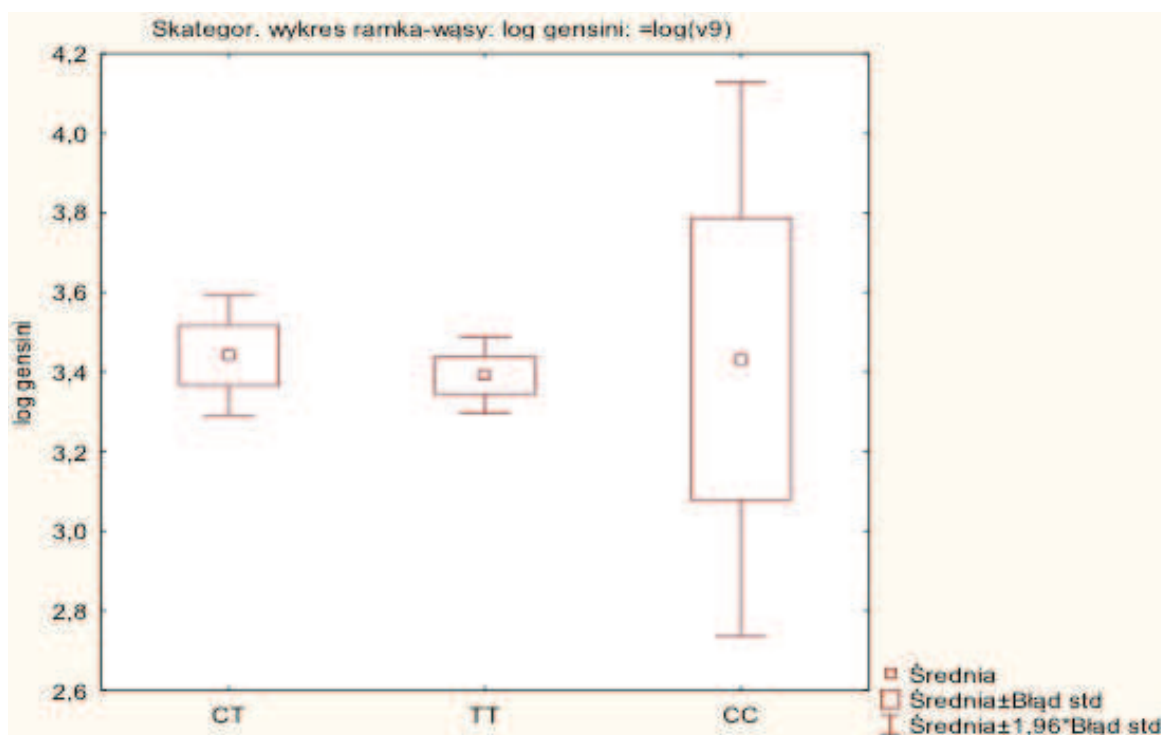
W tabeli 69 przedstawiono porównanie średniej wartości punktowej w skali Gensini dla poszczególnych genotypów polimorfizmu genu glikoproteiny płytkowej IIIa (*PIA1/PIA2 GPIIIa*).

Tabela 69. Średni wynik Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu PIA1/PIA2 GPIIIa

Wariant	średnia	SD	mediana
A2A2	26.3	44.1	2
A1A2	35.5	40.5	23
A1A1	30.5	38.3	14
			p=0.8177

Tabela 70. Porównania dwustronne średnich wyników (wartości p) oraz analiza wariancji Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu PIA1/PIA2 GPIIIa

	A1A1	A1A1	A2A2
A1A2		0.093	0.269
A1A1	0.093		0.897
A2A2	0.269	0.897	
Analiza wariancji	p=0.170		



Rysunek 17. Wykres ramka-wąsy dla średnich wartości Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu PIA1/PIA2 GPIIIa

*CC=A2A2, TT=A1A1, CT=A1A2

W wykonanej analizie statystycznej nie znaleziono istotnych różnic pomiędzy średnimi

wynikami skali Gensini u pacjentów z poszczególnymi wariantami polimorfizmu Leu33/Pro genu glikoproteiny płytkowej (Tabela 70, Rysunek 17).

4.3.8 Polimorfizm G460W genu alfa adducyny (G460W ADD1)

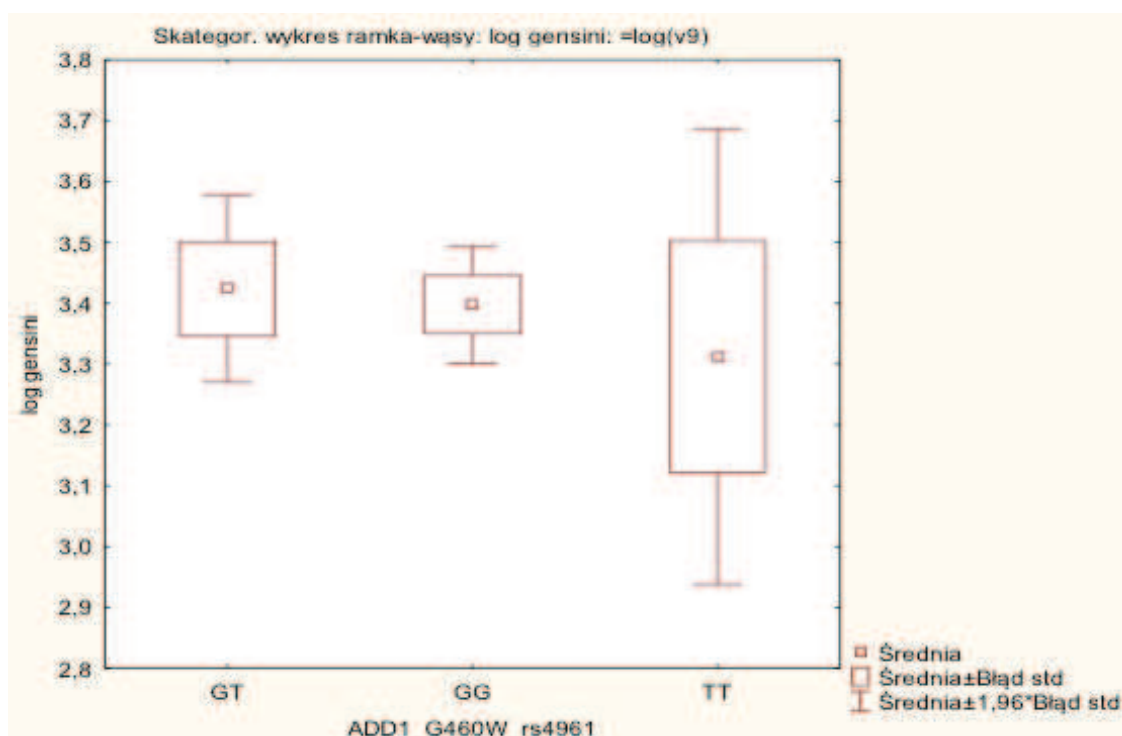
W tabeli 71 przedstawiono porównanie średniej wartości punktowej w skali Gensini dla poszczególnych genotypów polimorfizmu genu alfa adducyny (*G460W ADD1*).

Tabela 71. Średni wynik Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu G460W ADD1

Wariant	średnia	mediana
GG	32.0±39.0	18
GW	30.7±40.1	12
WW	32.0±30.5	22
		p =0.8630

Tabela 72. Porównania dwustronne średnich wyników (wartości p) oraz analiza wariancji Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu G460W ADD1

	GW	GG	WW
GW		1.0	0.712
GG	1.0		1.0
WW	0.712	1.0	
Analiza wariancji	p=0.869		



Rysunek 18 Wykres ramka-wąsy dla średnich wartości Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu G460W ADD1

W przeprowadzonej analizie nie znaleziono istotnych różnic pomiędzy średnimi wynikami skali Gensini u pacjentów z poszczególnymi wariantami polimorfizmu G460W genu alfa adducyny (Tabela 72, Rysunek 18).

4.3.9 Polimorfizm C825T genu podjednostki beta-3 białka G (C825T GNB-3)

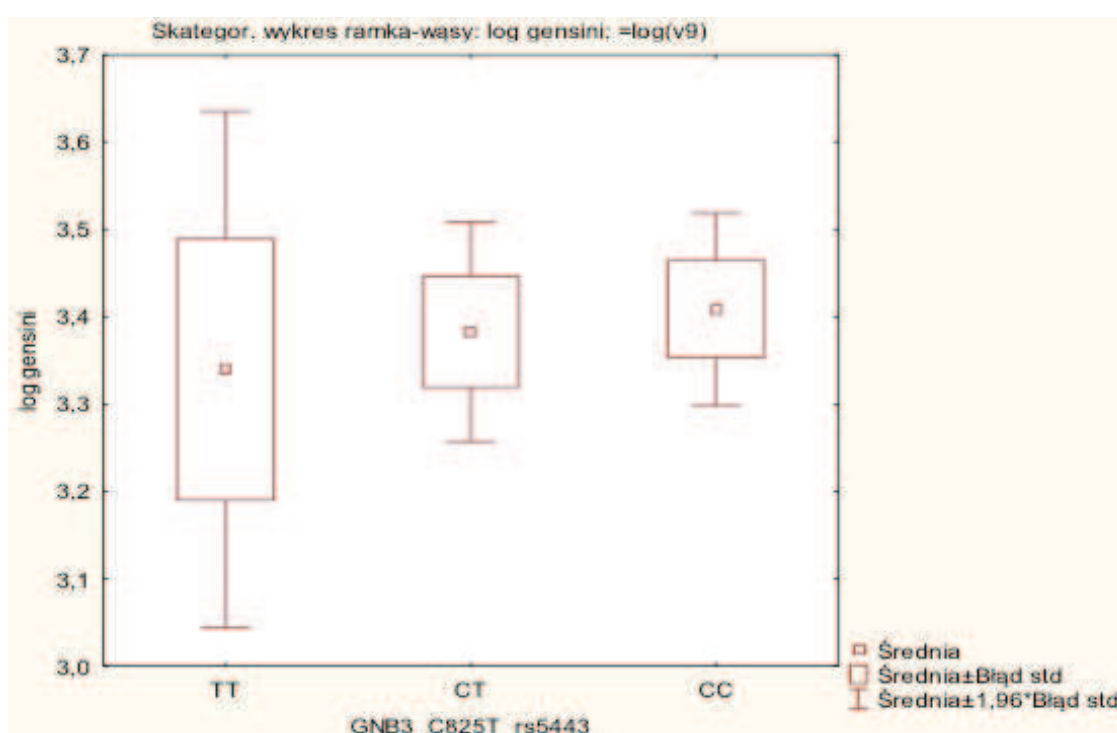
W tabeli 73 przedstawiono porównanie średniej wartości punktowej w skali Gensini dla poszczególnych genotypów polimorfizmu genu podjednostki beta-3 białka G (C825T GNB-3).

Tabela 73. Średni wynik Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu G825T GNB-3

wariant	średnia	mediana
CC	31.7±38.6	18
CT	31.5±38.9	14
TT	29.2±37.4	12
		p =0.944

Tabela 74. Porównania dwustronne średnich wyników (wartości p) oraz analiza wariancji Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu C825T GNB-3

	CT	CC	TT
CT		1.0	0.98
CC	1.0		1.0
TT	0.98	1.0	
Analiza wariancji	p=0.888		



Rysunek 19. Wykres ramka-wąsy dla średnich wartości Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu C825T GNB-3

W wykonanej analizie statystycznej nie znaleziono istotnych różnic pomiędzy średnimi wynikami skali Gensini u pacjentów z poszczególnymi wariantami polimorfizmu C825T genu podjednostki beta-3 białka G (Tabela 74, Rysunek 19).

5. Dyskusja

5.1 Wprowadzenie

Zrozumienie genetycznego podłoża chorób wymaga zrozumienia istoty polimorfizmów genetycznych. Niektóre z nich mogą przyczyniać się do patogenezы schorzeń, a możliwość identyfikacji sekwencji kodu genetycznego różnicującego osobę obciążoną ryzykiem zachorowania od osoby zdrowej to ważny krok w zrozumieniu podłoża molekularnego procesów chorobowych.

Polimorfizmy genetyczne są łatwe w identyfikacji z użyciem współczesnych metod molekularnych i niezmiennie przez całe życie osobnicze. Potwierdzenie związku polimorfizmu ze zwiększeniem ryzyka wystąpienia schorzenia umożliwia wczesną detekcję osób należących do grupy, w której dane schorzenie może wystąpić wcześniej i/lub częściej a także przebiegać z większym nasileniem objawów. W przypadku zrozumienia patomechanizmów powiązanych z danym polimorfizmem - taka identyfikacja dodatkowo daje możliwość wdrożenia profilaktyki na wczesnym etapie, lub zastosowania zindywidualizowanej strategii leczenia.

Najczęściej stosowaną metodą analizy znaczenia wariantów polimorficznych wybranych genów w patogenezie chorób jest analiza populacyjna, konfrontująca przypadki wystąpienia choroby z występowaniem lub współwystępowaniem polimorfizmów u badanych osobników względem grupy kontrolnej lub w populacji osób chorych, które różnią się cechami klinicznymi.

Na podstawie wyników licznych badań, w tym wielkich projektów, takich jak Human Genome Project zidentyfikowano i skatalogowano wiele klas polimorfizmów sekwencji kodujących i niekodujących genów lub ich regionów regulatorowych, które mogą być powiązane z patogenezą chorób [94]-[96]. W przypadku chorób układu sercowo-naczyniowego, takich jak choroba wieńcowa, pod uwagę brane są te geny, których produkty białkowe biorą udział w zaburzeniach patofizjologicznych istotnych dla rozwoju, przebiegu i powikłań choroby niedokrwiennej serca. Takimi produktami białkowymi są między innymi elementy układu renina-angiotensyna-aldosteron, inne

substancje aktywne w regulacji ciśnienia tętniczego, białka odpowiedzialne za wewnątrzkomórkowe przekazywanie sygnałów a także regulatory procesów krzepnięcia i funkcji płytek.

W niniejszym badaniu poszukiwano związków polimorfizmów 8 wybranych genów z częstością powikłań i zaawansowaniem choroby wieńcowej i miażdżycy. Odkrycie takich związków i ich potwierdzenie w grupie pacjentów poddawanych elektrycznej koronarografii umożliwiłoby szybszą identyfikację osób będących w grupie zwiększonego ryzyka już na wczesnym etapie a jednocześnie umożliwiłoby dokładniejszą interpretację obrazu klinicznego po badaniu koronarograficznym i adekwatną kwalifikację pacjenta do dalszego leczenia.

5.2 Częstość występowania punktów końcowych w badanej grupie w okresie obserwacji

Częstość wystąpienia głównego złożonego punktu końcowego definiowanego jako zgon, udar mózgu lub ostry zespół wieńcowy w populacji wynosiła w trzyletnim okresie obserwacji 41.9%.

Na częstość wystąpienia tego punktu istotny wpływ miał wiek pacjenta ($p = 0.003$), BMI ($p=0.024$) a także występowanie nadciśnienia tętniczego ($p=0.014$). Dodatkowo zauważono istotną relację między średnim zaawansowaniem zmian miażdżycowych w naczyniach wieńcowych wyrażoną wartością liczbową w skali Gensini a występowaniem głównego złożonego punktu końcowego ($p < 0.001$).

U 27.3% chorych wystąpił w okresie obserwacji ostry zespół wieńcowy, z czego dla poszczególnych pojedynczych punktów końcowych/ostrych zespołów wieńcowych częstość ta wynosiła odpowiednio: STEMI - 16.2%, NSTEMI 3.5%, UA 11.5%.

Wystąpienie ostrego zespołu wieńcowego miało związek z obciążeniem nadciśnieniem tętniczym ($p=0.016$), oraz cukrzycą ($p=0.001$). Ponadto obserwowano silną zależność pomiędzy zaawansowaniem choroby wieńcowej wyrażonym

punktowym wynikiem Gensini Score a wystąpieniem zawału mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST (STEMI) w trakcie obserwacji ($p=0.024$).

Udar mózgu wystąpił u 5.1% populacji badanej, z czego zgon na skutek udaru odnotowano u 1% pacjentów - w przypadku grupy pacjentów z udarem mózgu, nie udało się potwierdzić związku z żadnym klasycznym czynnikiem ryzyka - prawdopodobnie w wyniku niewielkiej liczebności grupy.

14% pacjentów w badanej grupie zmarło w trakcie obserwacji, z czego u 4% pacjentów był to zgon z przyczyn sercowo-naczyniowych. Więcej zgonów notowano w grupie pacjentów, którzy w trakcie obserwacji przeszli ostry zespół wieńcowy ($p < 0.05$). Na większą śmiertelność wpływ miał również wiek pacjenta ($p<0.001$), poziom cholesterolu całkowitego ($p=0.008$), cukrzyca ($p<0.001$), a także stopień zaawansowania choroby wieńcowej wyrażony Gensini Score ($p<0.001$).

Ze względu na dużą heterogenność grupy pacjentów poddanych elektrywnej koronarografii trudno jest jednoznacznie określić zgodność częstości wyżej wymienionych incydentów z doniesieniami światowymi. Doniesienia, w których grupa pacjentów była selekcjonowana w sposób podobny jak w niniejszym badaniu są nieliczne i niewiele jest opracowań przedstawiających szczegółową analizę tak skonstruowanych subpopulacji pacjentów [97], [98].

5.3 Stopień zaawansowania choroby wieńcowej w badanej grupie

W badanej grupie oceniano stopień zaawansowania choroby wieńcowej poprzez kwantyfikację zmian w naczyniach wieńcowych z wykorzystaniem liczbowej skali Gensini Score. U 37% pacjentów stwierdzono brak zmian w naczyniach wieńcowych (Gensini Score = 0). U pozostałych osób średni wynik wynosił 30.7 (mediana=14).

Uzyskane wyniki znacząco różniły się w zależności od płci pacjenta - średnia wartość GS dla kobiet wynosiła 22.35 (mediana 5), a dla mężczyzn 36.1 (mediana 25) - różnica ta była znamienna statystycznie ($p<0.001$). Gensini Score był też zależny od

wieku pacjenta, ($p = 0.002$, $R=0.084$) - w grupie pacjentów < 56 r.ż. średnia wynosiła 28.07, u pacjentów > 70 r.ż. - 35.7.

Podobnie jak opisano to wyżej ze względu na dużą heterogenność grupy, oraz brak w literaturze porównywalnych badań, niezasadne wydaje się zestawienie rozkładu Gensini Score z innymi populacjami.

Stwierdzono jednoznaczny związek Gensini Score z częstością występowania głównego złożonego punktu końcowego ($p<0.001$), częstością występowania zawałów STEMI ($p=0.024$) jak również z częstością występowania zgonu w badanej grupie ($p<0.001$). Obserwacja ta potwierdza wartość prognostyczną skali Gensini jako jednego z predyktorów śmiertelności i częstości występowania powikłań choroby wieńcowej. [99].

5.4 Polimorfizm M235T genu angiotensynogenu

W przedstawionym powyżej zestawieniu i wynikach badań, częstość występowania poszczególnych genotypów wynosiła - TT: 26.8%, MM: 24.4%, MT: 48.8%. Częstość ta była zbieżna z przedstawianymi w badaniach na populacji europejskiej[29], [100], [101]. W niniejszym badaniu częstość występowania alleli wynosiła: T: 51%, M: 49%. Rozkład ten był zgodny z prawem równowagi Hardy-Weinberga. W odniesieniu do rozkładu klasycznych czynników ryzyka w grupach genotypowych - nie znaleziono istotnych statystycznie różnic pomiędzy tymi grupami.

Iloraz szans wystąpienia złożonego punktu końcowego definiowanego jako ostry zespół wieńcowy, udar lub zgon w badanej grupie pacjentów wynosił dla modelu MM vs MT+TT OR= 1.07 ($p= 0.65$), a dla modelu TT vs MT+MM OR= 0.79 ($p= 0.166$). Różnice te nie były istotne statystycznie.

Istniała jednak istotna statystycznie różnica między częstością występowania prostego punktu końcowego NSTEMI. Test istotności różnic pomiędzy poszczególnymi grupami potwierdził istotność statystyczną różnicy w teście Chi-kwadrat ($p=0.025$). Iloraz szans w punkcie końcowym NSTEMI dla modelu TT vs

MT+MM wynosił 2.81 ($p=0.09$). Analogicznie, niższy był iloraz szans dla posiadaczy genotypu MM w porównaniu z resztą badanej grupy - $OR=0.47$ ($p=0.283$).

Wyniki te potwierdzają opisany w niektórych pracach związek z częstszym występowaniem ostrych zespołów wieńcowych, w tym zawału mięśnia sercowego bez uniesienia odcinka ST u pacjentów będących nosicielami allele T [27].

Nie udało się natomiast stwierdzić związku tego allele z większym zaawansowaniem zmian miażdżycowych (Gensini Score).

Stopień zaawansowania angiograficznego zmian miażdżycowych w chorobie wieńcowej wyrażony wynikiem liczbowym w skali Gensini nie różnił się znacząco pomiędzy grupami reprezentującymi poszczególne genotypy (TT: 31.5, MT: 31.2, MM: 29.7, $p=0.33$).

Podobnie, nie stwierdzono związku opisywanego polimorfizmu z klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego. Nie udało się również potwierdzić postulowanego w opublikowanych badaniach związku nosicielstwa allele T z nadciśnieniem tętniczym. [27], [29]

5.5 Polimorfizm insercyjno/delecyjny genu enzymu konwertującego angiotensynę I (I/D ACE)

Rola angiotensyny II i enzymu katalizującego jej powstanie z angiotensyny I mają kluczowe znaczenie dla funkcjonowania układu sercowo-naczyniowego. Skłoniło to badaczy do poszukiwania związku pomiędzy aktywnością enzymu konwertującego angiotensynę a występowaniem chorób układu krążenia, w tym choroby wieńcowej. [39], [102], [103]

W wykonanym w niniejszej pracy badaniu próbowano potwierdzić związek polimorfizmu insercyjno/delecyjnego enzymu konwertującego angiotensynę z zaawansowaniem choroby wieńcowej a także występowaniem jej powikłań.

W badanej grupie częstość występowania poszczególnych genotypów wynosiła - II: 27%, DD: 22%, ID: 51% i była zbieżna z dużymi grupami opisywanymi w większości badań na populacji europejskiej. Częstość występowania alleli wynosiła: I: 52%, M: 48% i również pokrywała się z danymi przedstawianymi we wcześniejszych pracach. Rozkład ten był zgodny z prawem równowagi Hardy-Weinberga.

Rozkład klasycznych czynników ryzyka był niezależny od częstości występowania genotypów polimorfizmu I/D genu enzymu konwertującego angiotensynę. Stwierdzono wyższy poziom cholesterolu, większą częstość występowania cukrzycy i nadciśnienia tętniczego w grupie pacjentów z genotypem DD, niemniej różnice te nie osiągnęły zakładanego poziomu istotności statystycznej. Poziom zbliżony do istotnego obserwowano w przypadku porównania pacjentów z nadciśnieniem tętniczym (85% w grupie DD, 77% w grupie II, $p = 0.079$).

Średni stopień zaawansowania choroby wieńcowej w badanej grupie definiowany wartością punktową w skali Gensini był wyższy dla nosicieli allela D (DD: 32.1, ID: 31.7 vs II: 30.7) niemniej różnica ta w badanej grupie nie była istotna statystycznie ($p=0.25$).

Iloraz szans wystąpienia głównego złożonego punktu końcowego definiowanego jako ostry zespół wieńcowy, udar lub zgon w badanej grupie pacjentów wynosił dla modelu II vs ID+DD $OR = 0.98$ (95%CI= 0.57 - 1.33) $p = 0.88$, a dla modelu DD vs ID+II $OR = 1.13$ (95%CI= 0.81 - 1.57) $p = 0.45$. Ponownie - nosiciele allela D charakteryzowali się częstszym występowaniem punktu końcowego, niemniej różnice te nie były istotne statystycznie.

Ponadto stwierdzono częstsze występowanie zawału mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST (STEMI) u homozygot DD. Iloraz szans dla modelu DD vs ID+II wynosił $OR = 1.52$ ($p = 0.03$).

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w pozostałych grupach z różnie zdefiniowanymi pojedynczymi i złożonymi punktami końcowymi.

Uzyskane wyniki pozostają w zgodności z większością prac dotyczących wpływu polimorfizmu I/D ACE na choroby układu sercowo-naczyniowego - wskazując na większe ryzyko sercowo-naczyniowe pacjentów będących nosicielami allele D, częstsze występowanie nadciśnienia tętniczego, a także większą częstość występowania zawału mięśnia sercowego oraz jego powikłań u nosicieli allele D [102], [104].

5.6 Polimorfizm A1166C genu receptora dla angiotensyny II typu 1 (A1166C AT1R)

W opublikowanych do tej pory wynikach badań postuluje się wpływ polimorfizmu A1166C genu receptora typu 1 dla angiotensyny II na czynność układu sercowo-naczyniowego. W niektórych badaniach udowodniono wpływ nosicielstwa allele C na zwiększoną sztywność aorty, zwiększoną masę lewej komory, skurcz naczyń wieńcowych a także występowanie choroby wieńcowej i zawału serca [26] [47].

W badanej w niniejszej pracy grupie chorych częstość występowania poszczególnych genotypów polimorfizmu *A1166C* wynosiła: CC: 9%, AC: 40%, AA: 51% i była zgodna z wcześniej opisywanymi w podobnych badaniach populacyjnych rozkładami. Częstość występowania alleli wynosiła A: 71%, C: 29%. Rozkład ten pozostawał w zgodzie z prawem równowagi Hardy-Weinberga.

Rozkład klasycznych czynników ryzyka choroby wieńcowej był niezależny od genotypów polimorfizmu A1166C genu receptora typu 1 dla angiotensyny II, niemniej obserwowano nieco częstsze występowanie nadciśnienia tętniczego u heterozygot AC (82.7% vs AA-79.1%, CC 80.4% - $p=0.4$).

W badanej grupie wynik Gensini Score różnił się znacznie u pacjentów z genotypem CC (25.7 względem 30.6 i 33.8 odpowiednio dla AA i AC). Różnica ta była bliska zakładanego poziomu istotności statystycznej ($p<0.06$).

Iloraz szans wystąpienia głównego złożonego punktu końcowego, definiowanego jako ostry zespół wieńcowy, udar lub zgon wynosił dla modelu AA vs AC+CC OR=

0.96 ($p=0.758$) a dla modelu CC vs AC+AA OR= 1.01 ($p=0.982$). Wyniki te nie były istotne statystycznie.

Podobnie, nie znaleziono istotnych statystycznie różnic w występowaniu pojedynczych prostych i złożonych punktów końcowych dla poszczególnych wariantów genotypowych.

Mimo braku istotności statystycznej, wyniki te częściowo wpasowują się w doniesienia z innych prac na temat opisywanego polimorfizmu, które sugerują, że poszukiwanie związku opisywanego polimorfizmu z powikłaniami choroby wieńcowej i innych chorób układu krążenia należy poszerzyć o analizę wieloczynnikową, w tym z udziałem czynników środowiskowych i innych polimorfizmów genetycznych[54].

5.7 Polimorfizm C344T genu syntazy aldosteronu (C344T CYP11B2)

W opublikowanych dotychczas badaniach wymienia się związek polimorfizmu C344T genu syntazy aldosteronu z różnymi poziomami aldosteronu w osoczu, a także z częstością incydentów sercowo-naczyniowych. Postulowano również związek allele C z większym zaawansowaniem zmian miażdżycowych w naczyniach wieńcowych. [59]

W badanej grupie poszczególne genotypy występowały z częstością: TT - 28%, TC 51%, CC 21% i był to rozkład podobny do prezentowanych w większości badań na populacji europejskiej. Częstość poszczególnych alleli wynosiła 53% dla T i 47% dla C. Rozkład ten był zgodny z prawem równowagi Hardy-Weinberga.

W badanej grupie nie stwierdzono związku pomiędzy wariantami genotypowymi polimorfizmu C344T genu syntazy aldosteronu a wartościami Gensini Score, mimo iż - inaczej niż w publikowanych pracach stwierdzono niższą średnią wartość Gensini Score w grupie pacjentów z genotypem CC[59]. Różnica ta jednak nie była istotna statystycznie ($p=0.13$)

Nie stwierdzono również związku pomiędzy klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego a którymkolwiek z genotypów badanego polimorfizmu.

Iloraz szans dla głównego złożonego punktu końcowego definiowanego jako ostry zespół wieńcowy, udar lub zgon wynosił:

TT vs TC+CC: OR= 0.86 (p= 0.333), CC vs TC+TT: OR= 0.85 (p= 0.359)

i nie wykazywał cech istotności statystycznej.

Również analiza ilorazów szans dla pozostałych badanych prostych i złożonych punktów końcowych nie wykazała znamienności statystycznej.

W niniejszym badaniu nie udało się potwierdzić opisywanego w literaturze związku allele CC z częstszym występowaniem zawału serca, jak również z większym zaawansowaniem zmian w naczyniach wieńcowych[57]. Powyższy fakt może mieć związek z dużą heterogennością grupy selekcyjonowanej do elektywnej koronarografii, ocenianej w tym badaniu.

5.8 Polimorfizm T2238C genu przedsionkowego peptydu natriuretycznego (Scal A2/A1 ANP)

Przedsionkowy peptyd natriuretyczny, ze względu na swoje właściwości antymitogenne może brać istotny udział w patogenezie tworzenia się blaszki miażdżycowej, a w konsekwencji mieć związek z zaawansowaniem choroby wieńcowej oraz występowaniem incydentów wieńcowych. Wyniki dotychczasowych badań wskazują na allele A1 jako odpowiedzialny za większe zaawansowanie zmian w naczyniach wieńcowych oraz częstszą predyspozycję do występowania OZW [65]. Niektórzy autorzy jednak nie potwierdzają tego związku, a wręcz wskazują na allele A2 jako ten związany z większym ryzykiem[66].

W badanej w niniejszym badaniu grupie chorych rozkład częstości genotypów wynosił odpowiednio- A2A2: 76%, A2A1: 22% , A1A1: 2% i był zgodny z wynikami opisywanymi w publikacjach dotyczących badań nad populacją europejską. Częstość występowania alleli wynosiła - A2: 87%, A1: 13% i pozostawała w zgodzie z prawem równowagi Hardy-Weinberga.

Analiza czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego ujawniła większe wartości Body Mass Index (BMI) w grupie pacjentów z genotypem A1A1 (30.8 vs A2A2 - 28.0, i A2A1 27.7, $p=0.016$).

Zależność ta została opisana w wykonanej na szwedzkiej populacji analizie wpływu polimorfizmu T2238C genu ANP na występowanie cukrzycy[105]. Badacze zasugerowali jednak, że rezultat ten jest prawdopodobnie związany z niewielką grupą nosicieli allele A2 i oczekiwanym wynikiem powinna być mniejsza wartość BMI u pacjentów z genotypem A1A1, podobnie jak w badaniu Cannone i wsp.[106].

W niniejszym badaniu obserwowano też częstsze występowanie nadciśnienia tętniczego i cukrzycy w grupie posiadaczy genotypu A1A1, niemniej różnice te nie były istotne statystycznie.

Powyższe zależności podkreślają ambiwalencję w interpretacji wpływu polimorfizmu ScaI ANP na czynniki ryzyka choroby wieńcowej.

W badanej grupie nie stwierdzono istotnego związku między polimorfizmem ScaI ANP a częstością występowania głównego złożonego punktu końcowego MACE definiowanego jako ostry zespół wieńcowy, zawał lub udar mózgu.

Iloraz szans dla wystąpienia głównego punktu końcowego w modelu A1A1 vs A2A1+A2A2 wynosił $OR= 0.5$ ($p= 0.252$), a w modelu A2A2 vs A2A1+A1A1 $OR= 0.93$ ($p= 0.655$).

Wśród ujętych w analizie pacjentów stwierdzono częstsze występowanie zawału mięśnia sercowego NSTEMI u pacjentów z genotypem A2A2. Iloraz szans wynosił dla modelu A2A2 vs. A1A2 + A1A1= 4.10 ($p= 0.055$). U pacjentów z genotypem A1A1 nie stwierdzono występowania NSTEMI. Jest to tendencja przeciwna do

przedstawianych w większości publikacji dotyczących tego polimorfizmu - dostępne doniesienia wskazują raczej na częstsze występowanie ostrych zespołów wieńcowych u nosicieli allele A1[106]. Istnieją niemniej badania, w tym z gdańskiego ośrodka, w których wykazano podobną asocjację do opisaną w niniejszym badaniu - występowanie większego zaawansowania choroby wieńcowej wiązało się u pacjentów z genotypem A2A2[66]. Należy jednak zwrócić uwagę na fakt, że w badanej grupie liczność pacjentów z wariantem A1A1 była niska (18 osób = 1% badanej grupy).

W świetle powyższych rozważań należy ostrożnie podejść do otrzymanych wyników, skłaniając się w kierunku możliwości zafałszowania rozumowania statystycznego w związku z niską liczebnością pacjentów z genotypem A1A1, a także braku zgodności z związanymi z chorobą wieńcową i ostrymi zespołami wieńcowymi czynnikami ryzyka (wysokie BMI, HA, DM) u pacjentów z genotypem A1A1.

5.9 Polimorfizm Leu33/Pro genu glikoproteiny płytkowej (PIA1/PIA2 GPIIIa)

Rola płytek krwi w patogenezie miażdżycy i choroby wieńcowej jest przedmiotem licznych badań nad tymi zjawiskami chorobowymi.

Polimorfizm Leu33/Pro Glikoproteiny płytkowej IIIa jest jednym z najczęściej badanych w związkach z występowaniem i zaawansowaniem choroby wieńcowej. Mimo wielu sygnałów sugerujących powiązanie allele PIA2 tego polimorfizmu z częstszym występowaniem ostrych zespołów wieńcowych, w dalszym ciągu nie udaje się w sposób jednoznaczny potwierdzić jego roli zarówno w dużych analizach jak i mniejszych badaniach. [107].

W niniejszym badaniu rozkład genotypów wśród pacjentów poddanych elektywnej koronarografii wynosił - PIA1A1: 72%, PIA1A2: 26%, PIA2A2: 2% i był zgodny z rozkładami obserwowanymi w populacjach kaukaskich opisywanych w większości badań nad tym polimorfizmem. Rozkład alleli w badanej grupie był zgodny z prawem równowagi Hardy-Weinberga: PIA1 - 85%, PIA2 - 15%.

Iloraz szans dla wystąpienia głównego złożonego punktu końcowego definiowanego jako ostry zespół wieńcowy, udar lub zgon wynosił dla modelu A1A1 vs A1A2+A2A2 - OR= 0.95 ($p= 0.723$) a dla modelu A2A2 vs A1A2+A1A1 OR= 1.01 ($p= 0.984$).

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w zakresie występowania zarówno głównego złożonego punktu końcowego jak i dodatkowych prostych oraz złożonych punktów końcowych.

Brak znamienności statystycznej nie jest wynikiem zaskakującym w świetle dotychczasowych badań - wiele analiz nie potwierdziło zakładanego związku. Powyższe wyniki sugerują, że należy poszukiwać nie tylko bezpośredniej korelacji między wpływem genotypu na czynniki ryzyka choroby wieńcowej, ale możliwych dodatkowych powiązań z klasycznymi czynnikami ryzyka, środowiskowymi lub w zestawieniu z innymi polimorfizmami.[107]

5.10 Polimorfizm G460W genu alfa adducyny (G460W ADD1)

Polimorfizm G460W genu alfa-adducyny jest wiązany z ryzykiem incydentów sercowo-naczyniowych, zaawansowaniem zmian w naczyniach wieńcowych a także udarem mózgu. W niektórych doniesieniach postuluje się wpływ allele W na częstsze występowanie ostrych zespołów wieńcowych i większe zaawansowanie zmian miażdżycowych[80].

Rozkład genotypów w badanej populacji przedstawiał się następująco - GG: 69%, GW: 28%, WW: 3% i był podobny do rozkładów opisywanych w większości publikacji badań na populacjach europejskich. Rozkład alleli wynosił: G-83%, W-17% i był zgodny z prawem równowagi Hardy-Weinberga.

W syntetycznej analizie czynników ryzyka obserwowano jedynie nieznacznie częstsze (84.9% vs 83.21 i 79.6%) występowanie nadciśnienia tętniczego w grupie pacjentów z genotypem WW. Różnica ta była nieznamienna statystycznie ($p=0.38$).

Nie stwierdzono również istotnych statystycznie różnic w występowaniu głównego złożonego punktu końcowego. Obserwowano natomiast częstsze występowanie zawału mięśnia sercowego bez uniesienia odcinka ST (NSTEMI) u pacjentów z genotypem WW; iloraz szans dla modelu WW vs GW+GG wynosił 3.73 ($p=0.03$).

Powyższe rezultaty pozostają w zgodności z publikacjami dotyczącymi opisywanego polimorfizmu w kontekście wydarzeń sercowo-naczyniowych - potwierdzono wpływ allela W na częstsze występowanie incydentów sercowo-naczyniowych. [80]-[82]

5.11 Polimorfizm C825T genu podjednostki beta-3 białka G (C825T GNB-3)

Polimorfizm C825T genu podjednostki beta-3 białka G jest wymieniany w wielu pracach jako potencjalnie korelujący z występowaniem otyłości, nadciśnienia tętniczego[108], cukrzycy, podwyższonym poziomem cholesterolu, a także insulinoopornością[109]. Ponadto w niektórych badaniach postulowano powiązanie występowania genotypu TT z większym ryzykiem incydentów sercowo-naczyniowych[84]. W niniejszej pracy udało się częściowo udowodnić ten związek.

W badanej grupie stwierdzono następujący rozkład częstości genotypów polimorfizmu C825T GNB-3: CC: 51%, CT: 41%, TT: 8%. Rozkład ten był podobny do obserwowanych w zbliżonych badaniach nad populacją europejską. Allele występowały z częstością: C=72%, T=28% i rozkład ten był zgodny z prawem równowagi Hardy-Weinberga.

W badanej populacji stwierdzono częstsze występowanie nadciśnienia tętniczego i cukrzycy wśród posiadaczy genotypu TT, niemniej różnice te nie były istotne

statystycznie, podobnie jak dla pozostałych branych pod uwagę w badaniu czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego.

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w częstości występowania głównego złożonego punktu końcowego (zgon, OZW, udar) - iloraz szans dla modelu TTvsCT+CC wynosił $OR = 1.25$ ($p = 0.369$), a dla modelu CC vs CT+TT $OR = 0.86$. ($p = 0.267$).

Nie znaleziono również statystycznej istotnie różnicy w zaawansowaniu zmian w naczyniach wieńcowych wyrażonym wynikiem punktowym w skali Gensini.

W niniejszej analizie stwierdzono rzadsze występowanie złożonego punktu końcowego definiowanego jako dławica piersiowa niestabilna wśród pacjentów z genotypem CC. Częstości wynosiły odpowiednio dla CC: 9%, 13.8%, TT:15.6%. Iloraz szans dla modelu CCvsCT+TT wynosił $OR = 0.66$ ($p = 0.034$), a dla modelu TTvsCT+CC 1.41 ($p = 0.274$).

Powyższe rezultaty pozostają w zgodzie z aktualnymi doniesieniami, w których postuluje się związek allele T z częstszym występowaniem chorób układu sercowo-naczyniowego, w tym choroby wieńcowej oraz większą częstością jej powikłań. [110].

6. Podsumowanie i wnioski

1. Nie wykazano istotnego związku między występowaniem głównego złożonego punktu końcowego definiowanego jako zgon, ostry zespół wieńcowy, udar mózgu z genotypami analizowanych wariantów polimorficznych:

- *M235T* genu angiotensynogenu (*M235T AGT*),
- *Insercyjno/delecyjnego* genu enzymu konwertującego angiotensynę I (*I/D ACE*),
- *A1166C* genu receptora dla angiotensyny II typu 1 (*A1166C AT1R*),
- *C344T* genu syntazy aldosteronu (*C344T CYP11B2*),
- *T2238C* genu przedsionkowego czynnika natriuretycznego (*ScaI ANP*),
- *Leu33/Pro* genu glikoproteiny płytkowej IIIa (*PLA1/PLA2 GPIIIa*),
- *G460W* genu alfa adducyny,
- *C825T* genu podjednostki beta-3 białka G (*C825T GNB-3*)

2. W badanej grupie stwierdzono istotny statystycznie związek pomiędzy wybranymi drugorzędowymi punktami końcowymi, a badanymi wariantami polimorficznymi analizowanych genów:

- wykazano zwiększenie ryzyka wystąpienia zawału mięśnia sercowego bez uniesienia odcinka ST (NSTEMI) u pacjentów z homozygotycznym genotypem TT polimorfizmu *M235T* genu angiotensynogenu (*AGT*), genotypem WW polimorfizmu *G460W* genu alfa-adducyny (*ADD1*), oraz genotypem A2A2 polimorfizmu *A2/A1* genu przedsionkowego peptydu natriuretycznego (*ScaI ANP*).
- wykazano zwiększenie ryzyka wystąpienia zawału mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST (STEMI) wśród chorych z homozygotycznym genotypem DD polimorfizmu insercyjno/delecyjnego genu enzymu konwertującego angiotensynę (*I/D ACE*).

- wykazano, że nosicielstwo allele T (genotypy TT i CT) polimorfizmu *C825T* genu podjednostki beta-3 białka G (*GNB-3*) w znaczący sposób zwiększa ryzyko występowania dławicy piersiowej niestabilnej (UA).

3. Stwierdzono znamienne statystycznie powiązanie zaawansowania zmian w naczyniach wieńcowych ocenianych przy pomocy skali Gensini z:

- głównym złożonym punktem końcowym (ostry zespół wieńcowy, udar, zgon)
- drugorzędowymi punktami końcowymi: zawałem mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST (STEMI), zgonem

4. Nie stwierdzono związku pomiędzy genotypami analizowanych polimorfizmów a zaawansowaniem zmian w naczyniach wieńcowych ocenianych przy pomocy skali Gensini.

5. Potwierdzono związek częstości występowania następujących punktów końcowych z klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego:

- głównego złożonego punktu końcowego z wiekiem pacjenta, BMI oraz nadciśnieniem tętniczym
- ostrego zespołu wieńcowego z nadciśnieniem tętniczym i cukrzycą,
- zgonu z wiekiem, BMI, poziomem cholesterolu całkowitego w surowicy, nadciśnieniem tętniczym oraz cukrzycą.

7.Streszczenie

Choroby układu krążenia, w tym choroba wieńcowa, są jedną z głównych przyczyn umieralności w krajach wysoko rozwiniętych. Śmiertelność roczna z powodu chorób układu krążenia w krajach Unii Europejskiej w 2010 roku wynosiła 76.2/100 tys. mieszkańców. Pomimo poprawy wskaźników śmiertelności w ostatnich latach, choroba wieńcowa jest istotnym problemem epidemiologicznym, a schorzenia układu sercowo-naczyniowego stanowią główną przyczynę śmiertelności w Polsce i krajach Unii Europejskiej.

Jednym z głównych wskazań do elektywnej koronarografii jest podejrzenie choroby wieńcowej; grupa pacjentów kwalifikowanych do tego badania jest wiarygodnym przykładem populacji z podwyższonym ryzykiem sercowo-naczyniowym.

W badaniach nad chorobami układu krążenia sugeruje się, iż na rozwój, zaawansowanie i przebieg choroby wieńcowej mogą mieć wpływ czynniki genetyczne. W piśmiennictwie, na podstawie analiz i badań przeprowadzonych na dużych grupach chorych, z zastosowaniem metod molekularnych, wytypowano wiele genów kandydatów, oraz ich wariantów polimorficznych, które mogą mieć bezpośrednie przełożenie na patogenezę miażdżycy, choroby wieńcowej, a także implikacje kliniczne. Poznanie tych implikacji może umożliwić wczesną identyfikację zagrożonych chorych i podjęcie adekwatnych interwencji profilaktycznych lub terapeutycznych.

Celem przeprowadzonych badań była ocena związku występowania wariantów polimorficznych wybranych genów wśród pacjentów poddanych elektywnej koronarografii z ocenianym prospektywnie, w minimalnie dwuletniej obserwacji, ryzykiem poważnych incydentów sercowo-naczyniowych (MACE - Major Adverse Cardiovascular Events) takich jak ostry zespół wieńcowy, zgon lub udar mózgu. Do analizy wybrane zostały polimorfizmy następujących 8 genów:

- *M235T* genu angiotensynogenu (*M235T AGT*),
- *Insercyjno/delecyjnego* genu enzymu konwertującego angiotensynę I (*I/D ACE*),

- *A1166C* genu receptora dla angiotensyny II typu 1 (*A1166C AT1R*),
- *C344T* genu syntazy aldosteronu (*C344T CYP11B2*),
- *T2238C* genu przedsionkowego czynnika natriuretycznego (*ScaI ANP*),
- *Leu33/Pro* genu glikoproteiny płytkowej IIIa (*PLA1/PLA2 GPIIIa*),
- *G460W* genu alfa adducyny (*G460W ADD1*),
- *C825T* genu podjednostki beta-3 białka G (*C825T GNB-3*)

Badania przeprowadzono na grupie 1345 pacjentów zakwalifikowanych do elektywnej koronarografii i hospitalizowanych w I Klinice Kardiologii Akademii Medycznej w Gdańsku w okresie od sierpnia 2003 do sierpnia 2006. Średni wiek pacjentów wynosił 63 ± 9.2 lat, 39% badanej grupy stanowiły kobiety, 61% mężczyźni. Koronarografia wykonana była w Pracowni Kardioangiologii Inwazyjnej Akademii Medycznej w Gdańsku, a na podstawie jej wyniku dodatkowo dla każdego pacjenta wyliczono wynik punktowy w skali zaawansowania angiograficznego choroby wieńcowej Gensini Score. Dane dotyczące incydentów sercowo-naczyniowych, które wystąpiły w okresie obserwacji uzyskiwano w trakcie wizyty kontrolnej, wywiadu telefonicznego przeprowadzonego do 24 miesięcy po wykonanej angioplastyce, a także na podstawie danych otrzymanych od Narodowego Funduszu Zdrowia, w postaci arkuszy zawierających zakodowane dane dotyczące świadczeń zdrowotnych w objętej badaniem grupie pacjentów w okresie od 2003 do końca 2011r. W celu wykonania badania genetycznego, od każdego chorego pobierano krew obwodową, z której izolowano genomowy DNA. Oznaczanie wybranych polimorfizmów wykonano przy pomocy metody z użyciem sond TaqMan. Oznaczenia te były wykonane w Clinical Research Center, University of Lund, Malmö w Szwecji (kierownik: prof. Olle Melander).

Na podstawie uzyskanych wyników badań nie wykazano w badanej grupie pacjentów istotnego statystycznie związku pomiędzy wystąpieniem głównego złożonego punktu końcowego definiowanego jako ostry zespół wieńcowy, udar mózgu, zgon, a którymkolwiek z wytypowanych do badania wariantów polimorficznych genów.

Wykazano istotne statystycznie zależności pomiędzy częstością występowania niektórych prostych punktów końcowych z poszczególnymi wariantami polimorficznymi.

Stwierdzono częstsze występowanie zawału mięśnia sercowego NSTEMI u pacjentów z genotypem: TT polimorfizmu *M235T* genu angiotensynogenu, WW polimorfizmu *G460W ADD1* genu alfa-adducyny, A2A2 polimorfizmu *ScaI A1/A2 ANP* genu przedsionkowego peptydu natriuretycznego. Wykazano częstsze występowanie zawału mięśnia sercowego STEMI u pacjentów z genotypem DD polimorfizmu insercyjno/delecyjnego enzymu konwertującego angiotensynę (*I/D ACE*). Zaobserwowano, że dławica piersiowa niestabilna (UA) występowała częściej u pacjentów będących nosicielami allele T polimorfizmu *C825T GNB-3* genu podjednostki beta-3 białka G.

Natomiast nie wykazano powiązania pomiędzy stopniem zaawansowania zmian w naczyniach wieńcowych wyrażonym jako wynik punktowy w skali Gensini a którymkolwiek z założonych w badaniu wariantów polimorficznych genów. Obserwacje kliniczne badanej grupy chorych wykazały znamienne statystycznie związki pomiędzy wartością punktową Gensini Score a występowaniem założonych w badaniu punktów końcowych – głównym złożonym punktem końcowym (ostry zespół wieńcowy, udar mózgu, zgon), zawałem mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST (STEMI), złożonym punktem końcowym zgon, zgonem z nieznanymi przyczyn. Wyższy wynik punktowy Gensini Score zwiększał ryzyko wystąpienia tych punktów końcowych.

Ponadto potwierdzono związek niektórych klasycznych czynników ryzyka z wystąpieniem poważnych zdarzeń sercowo-naczyniowych – głównego złożonego punktu końcowego z wiekiem pacjenta, BMI oraz nadciśnieniem tętniczym, złożonego punktu końcowego definiowanego jako ostry zespół wieńcowy z obciążeniem nadciśnieniem tętniczym i cukrzycą, a także zgonu pacjenta z wiekiem, BMI, poziomem cholesterolu całkowitego, nadciśnieniem tętniczym i cukrzycą.

W podsumowaniu, wyniki niniejszego badania potwierdzają, że polimorfizmy badanych genów mają istotny wpływ na występowanie poważnych zdarzeń sercowo-naczyniowych u pacjentów poddanych elektywnej koronarografii i mogą służyć jako istotny czynnik rokowniczy w prognozowaniu rozwoju choroby wieńcowej.

Summary

Cardiovascular diseases and coronary heart disease among them are the main cause of all-time mortality in highly developed countries. Yearly mortality rate in member countries of UE in 2010 was rated to be 76.2 per 100 thousand citizens. Despite decrease in overall cardiovascular mortality in recent years it is still a major epidemiological problem and cardiovascular diseases account for the main cause of mortality in Poland and EU.

One of the most important, and at the same time the most common diagnostic method in coronary artery disease is coronary angiography, known otherwise as coronarography. One of the most important indications to performing coronarography is symptoms of CAD – a group of patients qualified to coronarography is a good example of representative population of persons with elevated cardiovascular risk.

Recent studies, related to cardiovascular disease suggest that there exist genetic factors that influence development, severity and course of coronary artery disease. Large investigations and genome wide studies have identified so called candidate genes, and their polymorphic variants, which might have a direct relation to pathogenesis of atherosclerosis and CAD as well as clinical implications. Identifying these implications might allow for early identification of patients at risk and undertake appropriate preventive and therapeutic measures. The aim of this study was to assess relation of the following polymorphic variants:

- *M235T* of angiotensinogen gene (*M235T AGT*),
- *Insertion/deletion polymorphism* of angiotensin converting enzyme (*I/D ACE*),
- *A1166C* of angiotensin II type 1 receptor gene (*A1166C AT1R*),
- *C344T* of aldosterone synthase gene (*C344T CYP11B2*),
- *T2238C* of atrial natriuretic peptide gene (*ScaI ANP*),
- *Leu33/Pro* of platelet glycoprotein IIIa (*PLA1/PLA2 GPIIIa*),
- *G460W* of alpha-adducin gene (*G460W ADD1*),
- *C825T* of beta-3 protein G subunit gene (*C825T GNB-3*)

to risk of adverse major cardiovascular events such as acute coronary syndrome, brain stroke and death in patients undergoing elective coronary angiography in a prospective observation.

The study was conducted on a group of 1345 patients qualified to elective coronarography and hospitalized in 1st Clinic of Cardiology, Medical University of Gdańsk in the period between August 2003 and August 2006. Mean age of patients was 63 ± 9.2 years. 39% of patients were female, 61% male. Coronarography was performed in Invasive Cardioangiology Lab of Medical University of Gdańsk – based on angiographic assessment an overall Gensini Score, reflecting severity of all coronary artery lesions was calculated.

Genotyping was performed in Clinical Research Center, University of Lund, Malmö using TaqMan (Applied Biosystems, Foster City, USA) polymorphism identification method, according to vendor's specific instructions.

Basing on analyses performed, no association between the main composite endpoint (acute coronary syndrome, stroke, death) and any of the selected polymorphic variants was found. However, statistically significant associations were found between the following endpoints and polymorphic variants:

1. More frequent occurrence of Non-ST elevated myocardial infarction in patients with TT genotype of *M235T* angiotensinogen gene polymorphism
2. More frequent occurrence of ST-elevated myocardial infarction in patients with DD genotype of *insertion/deletion* polymorphism of Angiotensin Converting Enzyme.
3. More frequent occurrence of Non-ST elevated myocardial infarction in patients with WW genotype of *G460W ADD1* polymorphism of alpha-adducin gene.
4. More frequent occurrence of Non-ST elevated myocardial infarction in patients with A2A2 genotype of *ScaI A1/A2 ANP* polymorphism of atrial natriuretic peptide gene
5. More frequent occurrence of unstable angina in patients carrying T allele of *C825T GNB-3* polymorphism of protein G beta-3 subunit.

No association was found between Gensini Score and any of the selected polymorphic variants.

Zestawienie ilustracji:

Fotografia 1. Pracownia Kardiologii inwazyjnej (cathlab).	5
Rysunek 2. Zmodyfikowana technika Seldingera	5
Fotografia 3. Przygotowanie do koronarografii z dostępu od tętnicy promieniowej prawej	6
Fotografia 4. Wypływ tętniczy po nakłuciu tętnicy promieniowej prawej metodą Seldingera	6
Fotografia 5. Port tętniczy z zastawką hemostatyczną w tętnicy promieniowej prawej (producent: Balton).	7
Fotografia 7. Lekarz hemodynamista w trakcie badania angiograficznego (za zgodą: dr n. med. Radosław Targoński, kierownik pracowni hemodynamicznej, Pomorskie Centra Kardiologiczne, Wejherowo)	8
Fotografia 8. Prawa tętnica wieńcowa uwidocznioma w trakcie koronarografii (projekcja LAO 30, CRAN 0) – obraz prawidłowy	9
Fotografia 9. Lewa tętnica wieńcowa uwidocznioma w trakcie koronarografii (projekcja LAO 0, CRAN 30) – 95% przewężenie w odcinku proksymalnym (strzałka)	9
Rysunek 10. Zestawienie mnożników wykorzystywanych w skali Gensini dla poszczególnych segmentów naczyń wieńcowych.....	33
Rysunek 11. Dystrybucja wartości Gensini Score w badanej populacji	67
Rysunek 12. Wykres ramka-wąsy dla średnich wartości Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu M235T AGT (wyniki zlogarytmizowane)	68
Rysunek 13. Wykres ramka-wąsy dla średnich wartości Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu I/D ACE (wyniki zlogarytmizowane)	70
Rysunek 14. Wykres ramka-wąsy dla średnich wartości Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu A1166C AT1R	71
Rysunek 15. Wykres ramka-wąsy dla średnich wartości Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu C344T CYP11B2	72
Rysunek 16. Wykres ramka-wąsy dla średnich wartości Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu ScaI A2/A1 ANP.....	74
Rysunek 17. Wykres ramka-wąsy dla średnich wartości Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu PlA1/PlA2 GPIIIa	75
Rysunek 18 Wykres ramka-wąsy dla średnich wartości Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu G460W ADD1.....	77
Rysunek 19. Wykres ramka-wąsy dla średnich wartości Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu C825T GNB-3	78

Zestawienie tabel:

Tabela 1. Charakterystyka kliniczna badanej grupy	31
Tabela 2. Współczynniki odpowiadające poszczególnym segmentom tętnic wieńcowych ocenianym w skali Gensini.	34
Tabela 3. Punkty odpowiadające poszczególnym stopniom zwężenia tętnic wieńcowych w skali Gensini.	34
Tabela 4. Częstość występowania punktów końcowych w badanej grupie	38
Tabela 5. Częstość występowania głównego złożonego punktu końcowego w zestawieniu z klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego	39
Tabela 6. Częstość występowania złożonego punktu końcowego OZW w zestawieniu z klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego.	39
Tabela 7. Częstość występowania złożonego punktu końcowego zgon w zestawieniu z klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego	40
Tabela 8. Częstość występowania złożonego punktu końcowego udar mózgu w zestawieniu z klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego.....	40
Tabela 9. Zestawienie średnich wartości punktowych Gensini Score i wystąpienia punktów końcowych	41
Tabela 10. Zestawienie częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu M235T genu AGT w badanej grupie chorych	42
Tabela 11. Zestawienie częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu insercyjno/delecyjnego genu enzymu konwertującego angiotensynę w badanej grupie chorych	43
Tabela 12. Zestawienie częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu A1166C genu receptora dla angiotensyny II typu 1 w badanej grupie chorych.....	44
Tabela 13. Zestawienie częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu C344T genu syntazy aldosteronu w badanej grupie chorych.....	44
Tabela 14. Zestawienie częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu T228C genu przedsionkowego peptydu natriuretycznego (ScaI A2/A1 ANP) w badanej grupie chorych	45
Tabela 15. Zestawienie częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu Leu33/Pro genu glikoproteiny płytkowej (PIA1/PIA2 GPIIb) w badanej grupie chorych	46
Tabela 16. Zestawienie częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu G460W genu alfa-adducyny w badanej grupie chorych.....	46

Tabela 17. Zestawienie częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu C825T genu podjednostki beta białka G w badanej grupie chorych	47
Tabela 18. Analiza zgodności rozkładu genotypów przedstawionych polimorfizmów z prawem równowagi Hardy-Weinberga	48
Tabela 19. Zestawienie klasycznych czynników ryzyka z częstością występowania genotypów polimorfizmu M235T AGT	49
Tabela 20. Zestawienie częstości występowania głównego punktu końcowego (MACE) z genotypami polimorfizmu M235T AGT w badanej grupie	50
Tabela 21. Iloraz szans wystąpienia głównego punktu końcowego (MACE) w zestawieniu z genotypami polimorfizmu M235T AGT	50
Tabela 22. Zestawienie częstości występowania punktu końcowego NSTEMI z genotypami polimorfizmu M235T AGT	50
Tabela 23 Zestawienie częstości występowania punktu końcowego NSTEMI z genotypami polimorfizmu M235T AGT (kombinacje)	51
Tabela 24. Iloraz szans wystąpienia punktu końcowego NSTEMI w zestawieniu z genotypami polimorfizmu M235T AGT	51
Tabela 25. Zestawienie klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego z poszczególnymi genotypami polimorfizmu I/D ACE	52
Tabela 26. Zestawienie częstości występowania głównego złożonego punktu końcowego (MACE) z genotypami polimorfizmu I/D ACE w badanej grupie	52
Tabela 27. Iloraz szans wystąpienia głównego złożonego punktu końcowego (MACE) w zestawieniu z poszczególnymi genotypami polimorfizmu I/D ACE	52
Tabela 28. Zestawienie częstości wystąpienia złożonego punktu końcowego STEMI z genotypami polimorfizmu I/D ACE	53
Tabela 29. Zestawienie częstości wystąpienia punktu końcowego STEMI z genotypami polimorfizmu I/D ACE (kombinacje)	53
Tabela 30. Iloraz szans wystąpienia punktu końcowego STEMI w zestawieniu z genotypami polimorfizmu I/D ACE w badanej grupie	53
Tabela 31. Zestawienie klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego z genotypami polimorfizmu A1166C AT1R w badanej grupie	54
Tabela 32. Zestawienie częstości występowania głównego złożonego punktu końcowego (MACE) z genotypami polimorfizmu A1166C AT1R w badanej grupie	55

Tabela 33. Iloraz szans wystąpienia głównego złożonego punktu końcowego w zestawieniu z genotypami polimorfizmu A1166C AT1R w badanej grupie.....	55
Tabela 34. Zestawienie klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego z genotypami polimorfizmu C344T CYP11B2 w badanej grupie.....	56
Tabela 35. Zestawienie częstości występowania głównego złożonego punktu końcowego (MACE) z genotypami polimorfizmu C344T CYP11B2	56
Tabela 36. Iloraz szans wystąpienia głównego złożonego punktu końcowego (MACE) w zestawieniu z genotypami polimorfizmu C344T CYP11B2.....	56
Tabela 38. Zestawienie częstości występowania głównego złożonego punktu końcowego (MACE) z genotypami polimorfizmu ScaI A1/A2 ANP w badanej grupie	58
Tabela 39. Iloraz szans wystąpienia głównego złożonego punktu końcowego (MACE) w zestawieniu z genotypami polimorfizmu ScaI A1/A2 ANP w badanej grupie.....	58
Tabela 40. Częstość występowania punktu końcowego NSTEMI w zestawieniu z genotypami polimorfizmu ScaI A1/A2 ANP.....	59
Tabela 41. Zestawienie częstości występowania punktu końcowego NSTEMI i genotypów polimorfizmu ScaI A1/A2 ANP (kombinacje)	59
Tabela 42. Iloraz szans wystąpienia punktu końcowego NSTEMI w zestawieniu z genotypami polimorfizmu ScaI A1/A2 ANP.....	59
Tabela 43. Zestawienie klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego z genotypami polimorfizmu PlA1/A2 GPIIIa.....	60
Tabela 44. Częstość występowania głównego złożonego punktu końcowego (MACE) w zestawieniu z genotypami polimorfizmu PlA1/PlA2 GPIIIa.....	60
Tabela 45. Iloraz szans występowania głównego złożonego punktu końcowego w zestawieniu z genotypami polimorfizmu PlA1/PlA2 GPIIIa.....	61
Tabela 46. Zestawienie klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego z genotypami polimorfizmu G460W ADD1	61
Tabela 47. Zestawienie częstości występowania głównego złożonego punktu końcowego (MACE) z genotypami polimorfizmu G460W ADD1.....	62
Tabela 48. Iloraz szans dla wystąpienia głównego złożonego punktu końcowego w zestawieniu z genotypami polimorfizmu G460W ADD1	62
Tabela 49. Zestawienie częstości występowania punktu końcowego NSTEMI z genotypami polimorfizmu G460W ADD1	63

Tabela 50. Zestawienie częstości występowania punktu końcowego NSTEMI z genotypami polimorfizmu G460W ADD1 (kombinacje)	63
Tabela 51. Iloraz szans dla wystąpienia punktu końcowego NSTEMI w zestawieniu z genotypami polimorfizmu G460W ADD1.....	63
Tabela 53. Zestawienie częstości występowania głównego złożonego punktu końcowego (MACE) z genotypami polimorfizmu C825T GNB-3 w badanej populacji.....	64
Tabela 54. Iloraz szans dla wystąpienia głównego złożonego punktu końcowego (MACE) z genotypami polimorfizmu C825T GNB-3 w badanej populacji.....	65
Tabela 55. Zestawienie częstości występowania punktu końcowego UA z genotypami polimorfizmu C825T GNB-3 w badanej populacji.....	65
Tabela 56. Zestawienie częstości występowania punktu końcowego UA z genotypami polimorfizmu C825T GNB-3 w badanej populacji (kombinacje)	65
Tabela 57. Iloraz szans dla wystąpienia punktu końcowego UA w zestawieniu z genotypami polimorfizmu C825T GNB-3 w badanej populacji.....	66
Tabela 58. Średni wynik Gensini Score w badanej populacji w zależności od płci.....	67
Tabela 59. Średni wynik Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu M235T AGT.....	67
Tabela 60. Porównania dwustronne średnich wyników (wartości p) oraz analiza wariancji Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu M235T AGT.....	68
Tabela 61. Średni wynik Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu I/D ACE	69
Tabela 62. Porównania dwustronne średnich wyników (wartości p) oraz analiza wariancji Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu I/D ACE	69
Tabela 63. Średni wynik Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu A1166C AT1R.....	70
Tabela 64. Porównania dwustronne średnich wyników (wartości p) oraz analiza wariancji Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu A1166C AT1R	71
Tabela 66. Porównania dwustronne średnich wyników (wartości p) oraz analiza wariancji Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu C344T CYP11B2	72
Tabela 67. Średni wynik Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu ScaI A2/A1 ANP.....	73
Tabela 68. Porównania dwustronne średnich wyników (wartości p) oraz analiza wariancji Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu ScaI A2/A1 ANP.....	73

Tabela 69. Średni wynik Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu PIA1/PIA2 GPIIIa	75
Tabela 70. Porównania dwustronne średnich wyników (wartości p) oraz analiza wariancji Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu PIA1/PIA2 GPIIIa	75
Tabela 71. Średni wynik Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu G460W ADD1	76
Tabela 72. Porównania dwustronne średnich wyników (wartości p) oraz analiza wariancji Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu G460W ADD1	76
Tabela 73. Średni wynik Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu G825T GNB-3	77
Tabela 74. Porównania dwustronne średnich wyników (wartości p) oraz analiza wariancji Gensini Score w zestawieniu z genotypami polimorfizmu C825T GNB-3	78

Wykaz najczęściej używanych skrótów i sformułowań

A -	adenina
ACE -	enzym konwertujący angiotensynę I (<i>angiotensin-converting enzyme</i>)
Allel -	alternatywna formy genu w tym samym miejscu na chromosomie, determinująca tę samą cechę
ANP -	przedsionkowy peptyd natriuretyczny (<i>atrial natriuretic peptide</i>)
ASA-PCR-	łańcuchowa reakcja polimerazy DNA z wykorzystaniem primerów specyficznych w stosunku do allela (<i>allele specific amplification - polymerase chain reaction</i>)
AT1R -	receptor dla angiotensyny II typu 1 (<i>angiotensin II type I receptor</i>)
AT II -	angiotensyna II
BMI -	wskaźnik masy ciała (<i>body mass index</i>)
BVS -	bioresorbowalne rusztowanie naczyniowe (stent) <i>bioresorbable vascular scaffolding</i>
C -	cytozyna
CABG -	operacja przeszłowania aortalno-wieńcowego (<i>coronary artery bypass grafting</i>)
CAD -	choroba wieńcowa serca (<i>coronary artery disease</i>)
CI -	przedział ufności (<i>confidence interval</i>)
D -	allel delecyjny (<i>deletion</i>)
DNA -	kwas deoksyrybonukleinowy (<i>deoxyribonucleic acid</i>)
DES -	stent uwalniający lek (<i>drug eluting stent</i>)
dNTP -	trifosforan dezoksyrybonukleozydu (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)
EDTA -	sól sodowa kwasu etylenodwuaminoczteroocowego
Ekson / egzon -	kodująca część cząsteczki DNA
G -	guanina
GS-	Gensini Score
GPIIIa -	glikoproteina płytkowa IIIa (<i>platelet glycoprotein IIIa</i>)
Heterozygota –	nosiciel dwóch różnych alleli genu determinującego określoną cechę
HDL -	lipoproteiny o wysokiej gęstości (<i>high density lipoproteins</i>)
Homozygota -	nosiciel dwóch takich samych alleli genu determinującego określoną cechę

I -	allel insercyjny (<i>insertion</i>)
Intron -	niekodująca część cząsteczki DNA
IVUS -	ultrasonografia wewnątrznaczyniowa (<i>intravascular ultrasound</i>)
LDL -	lipoproteiny o niskiej gęstości (<i>low density lipoproteins</i>)
NSTEMI -	zawał mięśnia sercowego bez uniesienia odcinka ST (Non-ST-Elevated Myocardial Infarction)
OR -	iloraz szans (<i>odds ratio</i>)
PCI -	przezskórne interwencje wieńcowe (<i>percutaneous coronary interventions</i>)
PCR -	łańcuchowa reakcja polimerazy DNA (<i>polymerase chain reaction</i>)
POBA -	klasyczna angioplastyka balonowa (<i>plain old balloon angioplasty</i>)
Starter -	oligonukleotydowa sekwencja komplementarna do końców określonej sekwencji matrycowego DNA
PTCA -	przezskórna angioplastyka wieńcowa (<i>percutaneous transluminal coronary angioplasty</i>)
pz -	ilość par zasad w łańcuchu DNA jako jednostka długości łańcucha DNA
QCA -	komputerowa angiografia ilościowa (<i>quantitative coronary angiography</i>)
RAAS -	układ renina-angiotensyna-aldosteron (<i>renin-angiotensin-aldosterone system</i>)
RFLP -	polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (<i>restriction fragment length polymorphism</i>)
SDS -	siarczan dodecyłu sodu (<i>sodium dodecyl sulfate</i>)
STEMI -	zawał mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST (ST-Elevated Myocardial Infarction)
T -	tymina
Taq -	termostabilna polimeraza DNA (<i>Thermus aquaticus</i>)
TC -	cholesterol całkowity (<i>total cholesterol</i>)
TG -	trójglicerydy
UA -	niestabilna dusznicza bolesna (<i>unstable angina</i>)
UCD-	Nieznana przyczyna śmierci, Zgon z nieznanymi przyczyn (<i>Unknown Cause of Death</i>)
vs -	<i>versus</i>

Bibliografia

- [1] “European Commission - Eurostat - Your key to European Statistics,” *epp.eurostat.ec.europa.eu*. [Online]. Available: <http://epp.eurostat.ec.europa.eu/portal/page/portal/eurostat/home>. [Accessed: 08-Sep-2014].
- [2] G. Opolski, “Aktualny stan opieki kardiologicznej w Polsce,” 01-Jan-2011.
- [3] K. Fox, M. A. A. Garcia, D. Ardissino, P. Buszman, P. G. Camici, F. Crea, C. Daly, G. de Backer, P. Hjeldahl, J. Lopez-Sendon, J. Marco, J. Morais, J. Pepper, U. Sechtem, M. Simoons, K. Thygesen, European Society of Cardiology, “[Guidelines on the management of stable angina pectoris; the experts of the European Society of Cardiology on the management of stable angina pectoris].,” presented at the *Kardiologia polska*, 2006, vol. 64, no. 8, pp. 823–880.
- [4] N. Danchin, J. Ferrieres, M. Guenoun, S. Cattan, S. K. Rushton-Smith, N. Greenlaw, R. Ferrari, P. G. Steg, CLARIFY Investigators, “Management of outpatients in France with stable coronary artery disease. Findings from the prospective observational Longitudinal Registry of patients with stable coronary artery disease (CLARIFY) registry.,” *Arch Cardiovasc Dis*, vol. 107, no. 8, pp. 452–461, Aug. 2014.
- [5] Authors/Task Force members, S. Windecker, P. Kolh, F. Alfonso, J.-P. Collet, J. Cremer, V. Falk, G. Filippatos, C. Hamm, S. J. Head, P. Jüni, A. P. Kappetein, A. Kastrati, J. Knuuti, U. Landmesser, G. Laufer, F.-J. Neumann, D. J. Richter, P. Schauerte, M. Sousa Uva, G. G. Stefanini, D. P. Taggart, L. Torracca, M. Valgimigli, W. Wijns, and A. Witkowski, “2014 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization: The Task Force on Myocardial Revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) Developed with the special contribution of the European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI).,” *Eur. Heart J.*, vol. 35, no. 37, pp. 2541–2619, Oct. 2014.
- [6] A. Pursnani, T. Mayrhofer, M. Ferencik, and U. Hoffmann, “The 2013 ACC/AHA cardiovascular prevention guidelines improve alignment of statin therapy with coronary atherosclerosis as detected by coronary computed tomography angiography.,” *Atherosclerosis*, vol. 237, no. 1, pp. 314–318, Sep. 2014.
- [7] R. L. Tondreau and R. A. Boyer, “Cerebral angiography.,” *Pa Med*, vol. 70, no. 9, pp. 63–67, Sep. 1967.
- [8] E. Franchi, P. Marino, G. G. Biondi-Zoccai, G. De Luca, C. Vassanelli, and P. Agostoni, “Transradial versus transfemoral approach for percutaneous coronary procedures.,” *Curr Cardiol Rep*, vol. 11, no. 5, pp. 391–397, Sep. 2009.
- [9] T. Gökdeniz, F. Boyacı, E. Hatem, A. O. Aslan, A. Ç. Aykan, I. Gül, T. Turan, E. Kalaycıoğlu, and S. Celik, “SYNTAX Score Predicts the Left Ventricle Thrombus Development in Patients Undergoing Primary Percutaneous Coronary Intervention for First Anterior Myocardial Infarction.,” *Clin. Appl. Thromb. Hemost.*, vol. 20, no. 7, pp. 698–705, Oct. 2014.
- [10] I. J. Neeland, R. S. Patel, P. Eshtehardi, S. Dhawan, M. C. McDaniel, S. T. Rab, V. Vaccarino, A. M. Zafari, H. Samady, and A. A. Quyyumi, “Coronary angiographic scoring systems: an evaluation of their equivalence and validity.,” *Am. Heart J.*, vol. 164, no. 4, pp. 547–552.e1, Oct. 2012.

- [11] B. Preter, P. Greminger, and A. Grüntzig, "[Percutaneous transluminal recanalization after trauma].," *Rofo*, vol. 129, no. 6, pp. 785–787, Dec. 1978.
- [12] P. Jerie, *[Thirty years of the balloon catheter--A. Grüntzig and percutaneous balloon angioplasty]*., vol. 143, no. 12. 2004, pp. 866–871.
- [13] C. L. Grines, D. A. Cox, G. W. Stone, E. Garcia, L. A. Mattos, A. Giambartolomei, B. R. Brodie, O. Madonna, M. Eijgelshoven, A. J. Lansky, W. W. O'Neill, and M. C. Morice, "Coronary angioplasty with or without stent implantation for acute myocardial infarction. Stent Primary Angioplasty in Myocardial Infarction Study Group.," *N. Engl. J. Med.*, vol. 341, no. 26, pp. 1949–1956, Dec. 1999.
- [14] T. Palmerini, G. Biondi-Zoccai, and G. W. Stone, "Stent selection to minimize the risk of stent thrombosis.," *Curr. Opin. Cardiol.*, vol. 29, no. 6, pp. 578–585, Nov. 2014.
- [15] P. W. Serruys, B. Chevalier, D. Dudek, A. Cequier, D. Carrié, A. Iniguez, M. Dominici, R. J. van der Schaaf, M. Haude, L. Wasungu, S. Veldhof, L. Peng, P. Staehr, M. J. Grundeken, Y. Ishibashi, H. M. Garcia-Garcia, and Y. Onuma, "A bioresorbable everolimus-eluting scaffold versus a metallic everolimus-eluting stent for ischaemic heart disease caused by de-novo native coronary artery lesions (ABSORB II): an interim 1-year analysis of clinical and procedural secondary outcomes from a randomised controlled trial.," *Lancet*, Sep. 2014.
- [16] A. Mishra, A. Srivastava, T. Mittal, N. Garg, and B. Mittal, "Genetic predisposition to left ventricular dysfunction: a multigenic and multi-analytical approach.," *Gene*, vol. 546, no. 2, pp. 309–317, Aug. 2014.
- [17] P. Hoppmann, W. Koch, K.-L. Laugwitz, and A. Kastrati, "Genetic risk of restenosis after percutaneous coronary interventions in the era of drug-eluting stents.," *Coron. Artery Dis.*, p. 1, Jul. 2014.
- [18] A. Banerjee, "A review of family history of cardiovascular disease: risk factor and research tool.," *Int. J. Clin. Pract.*, vol. 66, no. 6, pp. 536–543, Jun. 2012.
- [19] M. J. Puckelwartz and E. M. McNally, "Genetic profiling for risk reduction in human cardiovascular disease.," *Genes (Basel)*, vol. 5, no. 1, pp. 214–234, 2014.
- [20] M. Manzanares, "Functional genomics of cardiovascular development and disease.," *Brief Funct Genomics*, vol. 13, no. 1, pp. 1–2, Jan. 2014.
- [21] E. Lara-Pezzi, A. Dopazo, and M. Manzanares, "Understanding cardiovascular disease: a journey through the genome (and what we found there).," *Dis Model Mech*, vol. 5, no. 4, pp. 434–443, Jul. 2012.
- [22] T. J. A. Chico, M. Milo, and D. C. Crossman, "The genetics of cardiovascular disease: new insights from emerging approaches.," *J. Pathol.*, vol. 220, no. 2, pp. 186–197, Jan. 2010.
- [23] R. B. Schnabel, A. Baccarelli, H. Lin, P. T. Ellinor, and E. J. Benjamin, "Next steps in cardiovascular disease genomic research--sequencing, epigenetics, and transcriptomics.," *Clin. Chem.*, vol. 58, no. 1, pp. 113–126, Jan. 2012.
- [24] A. Wojtczak and J. Skrzętkowicz, "Genetyczne uwarunkowanie choroby niedokrwiennej serca," pp. 1–4, Jul. 2007.
- [25] A. Hamosh, A. F. Scott, and J. S. Amberger, "Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), a knowledgebase of human genes and genetic disorders," *Nucleic acids ...*, 2005.
- [26] "Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM)."
- [27] G. Dzida, K. Buraczyńska, J. Sobstyl, A. Puźniak, P. Golon, J. Mosiewicz, and J. Hanzlik, "[M235T polymorphism of human angiotensinogen gene in essential hypertension in Polish population].," *Pol. Arch. Med. Wewn.*, vol. 102, no. 6, pp. 1033–1037, Dec. 1999.

- [28] A. Gardemann, J. Stricker, J. Humme, Q. D. Nguyen, N. Katz, M. Philipp, H. Tillmanns, F. W. Hehrlein, and W. Haberbosch, "Angiotensinogen T174M and M235T gene polymorphisms are associated with the extent of coronary atherosclerosis.," *Atherosclerosis*, vol. 145, no. 2, pp. 309–314, Aug. 1999.
- [29] M. Buraczyńska, Z. Pijanowski, D. Spasiewicz, T. Nowicka, T. Sodolski, T. Widomska Czekajska, and A. Ksiazek, "Renin-angiotensin system gene polymorphisms: assessment of the risk of coronary heart disease.," *Kardiologia Pol.*, vol. 58, no. 1, pp. 1–9, Jan. 2003.
- [30] M. Hladikova, A. Vašků, P. Stourač, Y. Benešová, and J. Bednařík, "Two frequent polymorphisms of angiotensinogen and their association with multiple sclerosis progression rate.," *J. Neurol. Sci.*, vol. 303, no. 1, pp. 31–34, Apr. 2011.
- [31] E. Bozec, C. Fassot, A.-I. Tropeano, P. Boutouyrie, X. Jeunemaitre, P. Lacolley, H. Dabire, and S. Laurent, "Angiotensinogen gene M235T polymorphism and reduction in wall thickness in response to antihypertensive treatment.," *Clin. Sci.*, vol. 105, no. 5, pp. 637–644, Nov. 2003.
- [32] T. S. Ahluwalia, M. Ahuja, T. S. Rai, H. S. Kohli, A. Bhansali, K. Sud, and M. Khullar, "ACE variants interact with the RAS pathway to confer risk and protection against type 2 diabetic nephropathy.," *DNA Cell Biol.*, vol. 28, no. 3, pp. 141–150, Mar. 2009.
- [33] X. Liang, J. Qiu, X. Liu, X. Li, S. Zhao, J. Wang, Y. Ma, and H. Gao, "Polymorphism of angiotensinogen gene M235T in myocardial infarction and brain infarction: a meta-analysis.," *Gene*, vol. 529, no. 1, pp. 73–79, Oct. 2013.
- [34] X. Sui and C. Gao, "The angiotensinogen gene M235T polymorphism and acute myocardial infarction risk: a meta-analysis of 22 studies.," *Mol. Biol. Rep.*, vol. 40, no. 7, pp. 4439–4445, Jul. 2013.
- [35] B. Rigat, C. Hubert, F. Alhenc-Gelas, F. Cambien, P. Corvol, and F. Soubrier, "An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels.," *J. Clin. Invest.*, vol. 86, no. 4, pp. 1343–1346, Oct. 1990.
- [36] E. Leatham, J. Barley, S. Redwood, W. Hussein, N. Carter, S. Jeffery, P. M. Bath, and A. Camm, "Angiotensin-1 converting enzyme (ACE) polymorphism in patients presenting with myocardial infarction or unstable angina.," *J Hum Hypertens*, vol. 8, no. 8, pp. 635–638, Aug. 1994.
- [37] C. Bauters and P. Amouyel, "Association between the ACE genotype and coronary artery disease. Insights from studies on restenosis, vasomotion and thrombosis.," *Eur. Heart J.*, vol. 19, pp. J24–9, Sep. 1998.
- [38] J. Borzyszkowska, A. Stanisławska-Sachadyn, M. Wirtwein, W. Sobiczewski, D. Cieciewicz, R. Targonski, M. Gruchala, A. Rynkiewicz, and J. Limon, "Angiotensin converting enzyme gene polymorphism is associated with severity of coronary artery disease in men with high total cholesterol levels.," *J. Appl. Genet.*, vol. 53, no. 2, pp. 175–182, May 2012.
- [39] A. I. Guney, D. Ergec, D. Kirac, H. Ozturhan, M. Caner, G. Koc, C. Kaspar, K. Ulucan, and M. Agirbasli, "Effects of ACE polymorphisms and other risk factors on the severity of coronary artery disease.," *Genet. Mol. Res.*, vol. 12, no. 4, pp. 6895–6906, 2013.
- [40] E. Zintzaras, G. Raman, G. Kitsios, and J. Lau, "Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion gene polymorphic variant as a marker of coronary artery disease: a meta-analysis.," *Arch. Intern. Med.*, vol. 168, no. 10, pp. 1077–1089, May 2008.
- [41] D. R. Singer, C. G. Missouris, and S. Jeffery, "Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism. What to do about all the confusion.," *Circulation*, vol. 94, no.

- 3, pp. 236–239, Aug. 1996.
- [42] P. Sethupathy, C. Borel, M. Gagnebin, G. R. Grant, S. Deutsch, T. S. Elton, A. G. Hatzigeorgiou, and S. E. Antonarakis, “Human microRNA-155 on chromosome 21 differentially interacts with its polymorphic target in the AGTR1 3' untranslated region: a mechanism for functional single-nucleotide polymorphisms related to phenotypes,” *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 81, no. 2, pp. 405–413, Aug. 2007.
 - [43] I. Faraoni, F. R. Antonetti, J. Cardone, and E. Bonmassar, “miR-155 gene: a typical multifunctional microRNA,” *Biochim. Biophys. Acta*, vol. 1792, no. 6, pp. 497–505, Jun. 2009.
 - [44] A. Bonnardeaux, E. Davies, X. Jeunemaitre, I. Féry, A. Charru, E. Clauser, L. Tiret, F. Cambien, P. Corvol, and F. Soubrier, “Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension,” *Hypertension*, vol. 24, no. 1, pp. 63–69, Jul. 1994.
 - [45] L. Tiret, A. Bonnardeaux, O. Poirier, S. Ricard, P. Marques-Vidal, A. Evans, D. Arveiler, G. Luc, F. Kee, and P. Ducimetière, “Synergistic effects of angiotensin-converting enzyme and angiotensin-II type 1 receptor gene polymorphisms on risk of myocardial infarction,” *Lancet*, vol. 344, no. 8927, pp. 910–913, Oct. 1994.
 - [46] M. Gruchala, D. Cieciewicz, K. Ochman, B. Wasag, A. Koprowski, A. Wojtowicz, W. Dubaniewicz, R. Targoński, W. Sobiczewski, A. Grzybowski, P. Romanowski, J. Limon, and A. Rynkiewicz, “Left ventricular size, mass and function in relation to angiotensin-converting enzyme gene and angiotensin-II type 1 receptor gene polymorphisms in patients with coronary artery disease,” *Clin. Chem. Lab. Med.*, vol. 41, no. 4, pp. 522–528, Apr. 2003.
 - [47] A. Benetos, F. Cambien, S. Gautier, S. Ricard, M. Safar, S. Laurent, P. Lacolley, O. Poirier, J. Topouchian, and R. Asmar, “Influence of the angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism on the effects of perindopril and nitrendipine on arterial stiffness in hypertensive individuals,” *Hypertension*, vol. 28, no. 6, pp. 1081–1084, Dec. 1996.
 - [48] Y. Jin, T. Kuznetsova, L. Thijs, B. Schmitz, Y. Liu, K. Asayama, S.-M. Brand, S. Heymans, E. Brand, R. Fagard, and J. A. Staessen, “Association of left ventricular mass with the AGTR1 A1166C polymorphism,” *Am. J. Hypertens.*, vol. 25, no. 4, pp. 472–478, Apr. 2012.
 - [49] A. Anvari, Z. Türel, A. Schmidt, N. Yilmaz, G. Mayer, K. Huber, E. Schuster, and M. Gottsauner-Wolf, “Angiotensin-converting enzyme and angiotensin II receptor 1 polymorphism in coronary disease and malignant ventricular arrhythmias,” *Cardiovasc. Res.*, vol. 43, no. 4, pp. 879–883, Sep. 1999.
 - [50] H. C. Chen, J. L. Bouchie, A. S. Perez, A. C. Clermont, S. Izumo, J. Hampe, and E. P. Feener, “Role of the angiotensin AT(1) receptor in rat aortic and cardiac PAI-1 gene expression,” *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 20, no. 10, pp. 2297–2302, Oct. 2000.
 - [51] L. Kurland, H. Melhus, J. Karlsson, T. Kahan, K. Malmqvist, P. Ohman, F. Nyström, A. Hägg, and L. Lind, “Polymorphisms in the angiotensinogen and angiotensin II type 1 receptor gene are related to change in left ventricular mass during antihypertensive treatment: results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol (SILVHIA) trial,” *J. Hypertens.*, vol. 20, no. 4, pp. 657–663, Apr. 2002.
 - [52] K. Zhang, B. Zhou, and L. Zhang, “Association study of angiotensin II type 1 receptor: A1166C (rs5186) polymorphism with coronary heart disease using systematic meta-analysis,” *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*, vol. 14, no. 2, pp. 181–188, Jun. 2013.

- [53] X. Jeunemaitre, F. Ledru, S. Battaglia, M. T. Guillanneuf, D. Courbon, C. Dumont, O. Darmon, L. Guize, J. L. Gueronprez, B. Diebold, and P. Ducimetière, "Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system and angiographic extent and severity of coronary artery disease: the CORGENE study.," *Hum. Genet.*, vol. 99, no. 1, pp. 66–73, Jan. 1997.
- [54] A. Gardemann, Q. D. Nguyen, J. Humme, J. Stricker, N. Katz, H. Tillmanns, F. W. Hehrlein, M. Rau, and W. Haberbosch, "Angiotensin II type 1 receptor A1166C gene polymorphism. Absence of an association with the risk of coronary artery disease and myocardial infarction and of a synergistic effect with angiotensin-converting enzyme gene polymorphism on the risk of these diseases.," *Eur. Heart J.*, vol. 19, no. 11, pp. 1657–1665, Nov. 1998.
- [55] E. Brand, N. Chatelain, P. Mulatero, I. Féry, K. Curnow, X. Jeunemaitre, P. Corvol, L. Pascoe, and F. Soubrier, "Structural analysis and evaluation of the aldosterone synthase gene in hypertension.," *Hypertension*, vol. 32, no. 2, pp. 198–204, Aug. 1998.
- [56] M. Kupari, A. Hautanen, L. Lankinen, P. Koskinen, J. Virolainen, H. Nikkila, and P. C. White, "Associations between human aldosterone synthase (CYP11B2) gene polymorphisms and left ventricular size, mass, and function.," *Circulation*, vol. 97, no. 6, pp. 569–575, Feb. 1998.
- [57] A. Hautanen, P. Toivanen, M. Mänttari, L. Tenkanen, M. Kupari, V. Manninen, K. M. Kayes, S. Rosenfeld, and P. C. White, "Joint effects of an aldosterone synthase (CYP11B2) gene polymorphism and classic risk factors on risk of myocardial infarction.," *Circulation*, vol. 100, no. 22, pp. 2213–2218, Nov. 1999.
- [58] J. R. Payne, S. S. Dhamrait, I. S. Toor, J. Cooper, A. Jones, G. J. Miller, S. E. Humphries, and H. E. Montgomery, "The -344T>C promoter variant of the gene for aldosterone synthase (CYP11B2) is not associated with cardiovascular risk in a prospective study of UK healthy men.," *Atherosclerosis*, vol. 174, no. 1, pp. 81–86, May 2004.
- [59] E.-Z. Jia, Z.-X. Xu, C.-Y. Guo, L. Li, Y. Gu, T.-B. Zhu, L.-S. Wang, K.-J. Cao, W.-Z. Ma, and Z.-J. Yang, "Renin-angiotensin-aldosterone system gene polymorphisms and coronary artery disease: detection of gene-gene and gene-environment interactions.," *Cell. Physiol. Biochem.*, vol. 29, no. 3, pp. 443–452, 2012.
- [60] T. J. Abell, A. M. Richards, H. Ikram, E. A. Espiner, and T. Yandle, "Atrial natriuretic factor inhibits proliferation of vascular smooth muscle cells stimulated by platelet-derived growth factor.," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 160, no. 3, pp. 1392–1396, May 1989.
- [61] D. R. Rutledge, Y. Sun, and E. A. Ross, "Polymorphisms within the atrial natriuretic peptide gene in essential hypertension.," *J. Hypertens.*, vol. 13, no. 9, pp. 953–955, Sep. 1995.
- [62] A. M. Richards, "ANP bioactivity in obese hypertensives.," *Hypertension*, vol. 34, no. 6, pp. e16–7, Dec. 1999.
- [63] E. Barbato, J. Bartunek, F. Mangiacapra, S. Sciarretta, R. Stanzione, L. Delrue, M. Cotugno, S. Marchitti, G. Iaccarino, G. Sirico, S. Di Castro, A. Evangelista, D. Lambrechts, P. Sinnaeve, B. De Bruyne, F. Van De Werf, S. Janssens, K. A. A. Fox, W. Wijns, M. Volpe, and S. Rubattu, "Influence of rs5065 atrial natriuretic peptide gene variant on coronary artery disease.," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 59, no. 20, pp. 1763–1770, May 2012.
- [64] A. I. Lynch, J. H. Eckfeldt, B. R. Davis, C. E. Ford, E. Boerwinkle, C. Leidencker-Foster, and D. K. Arnett, "Gene panels to help identify subgroups at

- high and low risk of coronary heart disease among those randomized to antihypertensive treatment: the GenHAT study.,” *Pharmacogenet. Genomics*, vol. 22, no. 5, pp. 355–366, May 2012.
- [65] S. Ziaee, S. Kalayinia, M. A. Boroumand, L. Pourgholi, S. Cheraghi, M. S. Anvari, and M. Sheikhvatan, “Association between the atrial natriuretic peptide rs5065 gene polymorphism and the presence and severity of coronary artery disease in an Iranian population.,” *Coron. Artery Dis.*, vol. 25, no. 3, pp. 242–246, May 2014.
- [66] M. Gruchala, D. Cieciewicz, B. Wasag, R. Targoński, W. Dubaniewicz, A. Nowak, W. Sobiczewski, K. Ochman, P. Romanowski, J. Limon, and A. Rynkiewicz, “Association of the ScaI atrial natriuretic peptide gene polymorphism with nonfatal myocardial infarction and extent of coronary artery disease.,” *Am. Heart J.*, vol. 145, no. 1, pp. 125–131, Jan. 2003.
- [67] V. Auffret, E. Oger, G. Leurent, E. Filippi, I. Coudert, J. P. Hacot, P. Castellant, A. Rialan, R. Delaunay, G. Rouault, P. Druelles, B. Boulanger, J. Treuil, B. Avez, M. Bedossa, D. Boulmier, M. Le Guellec, and H. Le Breton, “Efficacy of pre-hospital use of glycoprotein IIb/IIIa inhibitors in ST-segment elevation myocardial infarction before mechanical reperfusion in a rapid-transfer network (from the Acute Myocardial Infarction Registry of Brittany).,” *Am. J. Cardiol.*, vol. 114, no. 2, pp. 214–223, Jul. 2014.
- [68] A. Gardemann, J. Humme, J. Stricker, Q. D. Nguyen, N. Katz, M. Philipp, H. Tillmanns, F. W. Hehrlein, M. Rau, and W. Haberbosch, “Association of the platelet glycoprotein IIIa PLA1/A2 gene polymorphism to coronary artery disease but not to nonfatal myocardial infarction in low risk patients.,” *Thromb. Haemost.*, vol. 80, no. 2, pp. 214–217, Aug. 1998.
- [69] M. Gruchala, D. Cieciewicz, K. Ochman, R. Targoński, W. Dubaniewicz, W. Sobiczewski, B. Wasag, P. Drewla, P. Skarzynski, P. Romanowski, J. Limon, and A. Rynkiewicz, “Association between the PI(A) platelet glycoprotein GPIIIa polymorphism and extent of coronary artery disease.,” *Int. J. Cardiol.*, vol. 88, no. 2, pp. 229–237, Apr. 2003.
- [70] M. Garcia-Ribes, D. Gonzalez-Lamuño, R. Hernandez-Estefania, T. Colman, M. Pocovi, M. Delgado-Rodriguez, M. Garcia-Fuentes, and J. M. Revuelta, “Polymorphism of the platelet glycoprotein IIIa gene in patients with coronary stenosis.,” *Thromb. Haemost.*, vol. 79, no. 6, pp. 1126–1129, Jun. 1998.
- [71] A. M. Kucharska-Newton, K. L. Monda, S. Campbell, P. T. Bradshaw, L. E. Wagenknecht, E. Boerwinkle, B. A. Wasserman, and G. Heiss, “Association of the platelet GPIIb/IIIa polymorphism with atherosclerotic plaque morphology: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study.,” *Atherosclerosis*, vol. 216, no. 1, pp. 151–156, May 2011.
- [72] A. Slowik, T. Dziedzic, W. Turaj, J. Pera, L. Glodzik-Sobanska, P. Szermer, M. T. Malecki, D. A. Figlewicz, and A. Szczudlik, “A2 allele of GpIIIa gene is a risk factor for stroke caused by large-vessel disease in males.,” *Stroke*, vol. 35, no. 7, pp. 1589–1593, Jul. 2004.
- [73] J. Dropinski, J. Musial, M. Sanak, W. Wegrzyn, R. Nizankowski, and A. Szczeklik, “Antithrombotic effects of aspirin based on PLA1/A2 glycoprotein IIIa polymorphism in patients with coronary artery disease.,” *Thromb. Res.*, vol. 119, no. 3, pp. 301–303, 2007.
- [74] D. J. Angiolillo, A. Fernandez-Ortiz, E. Bernardo, F. Alfonso, M. Sabaté, C. Fernández, C. Stranieri, E. Trabetti, P. F. Pignatti, and C. Macaya, “PIA polymorphism and platelet reactivity following clopidogrel loading dose in patients undergoing coronary stent implantation.,” *Blood Coagul. Fibrinolysis*, vol. 15, no.

- 1, pp. 89–93, Jan. 2004.
- [75] M. Verdoia, E. Casetti, A. Schaffer, G. Di Giovine, and G. De Luca, “Platelet glycoprotein IIIa Leu33Pro gene polymorphism and coronary artery disease: A meta-analysis of cohort studies.,” *Platelets*, pp. 1–6, Aug. 2014.
- [76] A. P. Reiner, D. S. Siscovick, and F. R. Rosendaal, “Platelet glycoprotein gene polymorphisms and risk of thrombosis: facts and fancies.,” *Rev Clin Exp Hematol*, vol. 5, no. 3, pp. 262–87– discussion 311–2, Sep. 2001.
- [77] “ADD1 Gene - GeneCards | ADDA Protein | ADDA Antibody.”
- [78] C. Lanzani, L. Citterio, M. Jankaricova, M. T. Sciarrone, C. Barlassina, S. Fattori, E. Messaggio, C. D. Serio, L. Zagato, D. Cusi, J. M. Hamlyn, A. Stella, G. Bianchi, and P. Manunta, “Role of the adducin family genes in human essential hypertension.,” *J. Hypertens.*, vol. 23, no. 3, pp. 543–549, Mar. 2005.
- [79] C. J. Clark, E. Davies, N. H. Anderson, R. Farmer, E. C. Friel, R. Fraser, and J. M. Connell, “alpha-adducin and angiotensin I-converting enzyme polymorphisms in essential hypertension.,” *Hypertension*, vol. 36, no. 6, pp. 990–994, Dec. 2000.
- [80] T. Gerhard, Y. Gong, A. L. Beitelshes, X. Mao, M. T. Lobmeyer, R. M. Cooper-DeHoff, T. Y. Langae, N. J. Schork, M. D. Shriver, C. J. Pepine, J. A. Johnson, INVEST Investigators, “Alpha-adducin polymorphism associated with increased risk of adverse cardiovascular outcomes: results from GENetic Substudy of the International Verapamil SR-trandolapril Study (INVEST-GENES).,” *Am. Heart J.*, vol. 156, no. 2, pp. 397–404, Aug. 2008.
- [81] H. Schelleman, O. H. Klungel, J. C. M. Witteman, M. M. B. Breteler, A. Hofman, C. M. van Duijn, A. de Boer, and B. H. C. Stricker, “Diuretic-gene interaction and the risk of myocardial infarction and stroke.,” *Pharmacogenomics J.*, vol. 7, no. 5, pp. 346–352, Oct. 2007.
- [82] M. J. E. van Rijn, M. J. Bos, M. Yazdanpanah, A. Isaacs, A. Arias-Vásquez, P. J. Koudstaal, A. Hofman, J. C. Witteman, C. M. van Duijn, and M. M. B. Breteler, “Alpha-adducin polymorphism, atherosclerosis, and cardiovascular and cerebrovascular risk.,” *Stroke*, vol. 37, no. 12, pp. 2930–2934, Dec. 2006.
- [83] A. M. Castejon, A. B. Alfieri, I. S. Hoffmann, A. Rathinavelu, and L. X. Cubeddu, “Alpha-adducin polymorphism, salt sensitivity, nitric oxide excretion, and cardiovascular risk factors in normotensive Hispanics.,” *Am. J. Hypertens.*, vol. 16, no. 12, pp. 1018–1024, Dec. 2003.
- [84] M. Daimon, H. Sato, W. Kaino, K. Tada, K. Takase, S. Karasawa, K. Wada, W. Kameda, S. Susa, T. Oizumi, T. Kayama, M. Muramatsu, and T. Kato, “Association of the G-protein $\beta 3$ subunit gene polymorphism with the incidence of cardiovascular disease independent of hypertension: the Funagata study.,” *J Hum Hypertens*, vol. 27, no. 10, pp. 612–616, Oct. 2013.
- [85] A. G. Nikitin, D. A. Chudakova, E. V. Spitsina, L. O. Minushkina, D. A. Zateishchikov, V. V. Nosikov, and V. G. Debabov, “[Association of GNB3 gene C825T polymorphism with coronary heart disease].,” *Genetika*, vol. 43, no. 8, pp. 1129–1133, Aug. 2007.
- [86] C. Maniotis, K. Chantziara, P. Kokkoris, D. Papadogiannis, C. Andreou, C. Tsioufis, G. Vaiopoulos, and C. Stefanadis, “The AGT and the GNB3 polymorphisms and insulin resistance in prehypertension.,” *Hormones (Athens)*, vol. 13, no. 1, pp. 79–86, Jan. 2014.
- [87] K. Sedláček, M. Fischer, J. Erdmann, C. Hengstenberg, S. Holmer, S. Kürzinger, M. Muscholl, A. Luchner, G. A. Riegger, H.-W. Hense, and H. Schunkert, “Relation of the G protein beta3-subunit polymorphism with left ventricle structure and function.,” *Hypertension*, vol. 40, no. 2, pp. 162–167, Aug. 2002.

- [88] M. Klintschar, D. Stiller, P. Schwaiger, and M. Kleiber, "DNA polymorphisms in the tyrosine hydroxylase and GNB3 genes: association with unexpected death from acute myocardial infarction and increased heart weight.," *Forensic Sci. Int.*, vol. 153, no. 2, pp. 142–146, Oct. 2005.
- [89] A. Snapir, P. Heinonen, T. P. Tuomainen, T. A. Lakka, J. Kauhanen, J. T. Salonen, and M. Scheinin, "G-protein beta3 subunit C825T polymorphism: no association with risk for hypertension and obesity.," *J. Hypertens.*, vol. 19, no. 12, pp. 2149–2155, Dec. 2001.
- [90] L. Zhang, H. Zhang, K. Sun, Y. Song, R. Hui, and X. Huang, "The 825C/T polymorphism of G-protein beta3 subunit gene and risk of ischaemic stroke.," *J Hum Hypertens*, vol. 19, no. 9, pp. 709–714, Sep. 2005.
- [91] L. Guo, L.-L. Zhang, B. Zheng, Y. Liu, X.-J. Cao, Y. Pi, B.-H. Li, and J.-C. Li, "The C825T polymorphism of the G-protein β 3 subunit gene and its association with hypertension and stroke: an updated meta-analysis.," *PLoS ONE*, vol. 8, no. 6, p. e65863, 2013.
- [92] B. Ekici, A. F. Erkan, A. Alhan, I. Sayın, M. Ayılı, and H. F. Töre, "Is mean platelet volume associated with the angiographic severity of coronary artery disease?," *Kardiol Pol*, vol. 71, no. 8, pp. 832–838, 2013.
- [93] "TaqMan Universal PCR Master Mix Protocol," www3.appliedbiosystems.com. [Online]. Available: <http://www3.appliedbiosystems.com/sup/URLRedirect/index.htm?xDoD=4304449>. [Accessed: 20-Oct-2014].
- [94] E. Duncan, M. Brown, and E. M. Shore, "The revolution in human monogenic disease mapping.," *Genes (Basel)*, vol. 5, no. 3, pp. 792–803, 2014.
- [95] R. Roberts and M. Gollob, "Molecular cardiology and genetics in the 21st century--a primer.," *Curr Probl Cardiol*, vol. 31, no. 10, pp. 637–701, Oct. 2006.
- [96] L. G. Futterman and L. Lemberg, "The mysteries of the human genome uncovered--medicine is changed forever.," *Am. J. Crit. Care*, vol. 10, no. 2, pp. 125–132, Mar. 2001.
- [97] M. Plak, M. Łobos, W. Religa, A. Tokarek, A. Bonar, B. Janas, and M. Paradowski, "[Evaluation of clinical usefulness of selected laboratory markers in the prediction of myocardial infarction in patients under secondary prevention].," *Pol. Merkur. Lekarski*, vol. 31, no. 181, pp. 9–14, Jul. 2011.
- [98] L. J. Szatmáry, "[Emergency and elective percutaneous recanalization in ischemic heart disease].," *Orv Hetil*, vol. 135, no. 9, pp. 451–457, Feb. 1994.
- [99] M. D. İřcanlı, N. Metin Aksu, B. Evranos, K. Aytemir, and M. M. Özmen, "Comparison of TIMI and Gensini score in patients admitted to the emergency department with chest pain, who underwent coronary angiography.," *Med. Sci. Monit.*, vol. 20, pp. 343–349, 2014.
- [100] N. B. Babunova, L. O. Minushkina, D. A. Zateřshchikov, B. A. Sidorenko, and V. V. Nosikov, "[Association of the T174M and M235T polymorphisms of the angiotensinogen gene with myocardial ischemia in the Russian population of the city of Moscow].," *Mol. Biol. (Mosk.)*, vol. 37, no. 1, pp. 57–60, Jan. 2003.
- [101] J. R. Orltapp, J. Metrikat, V. Mevissen, F. Schmitz, M. Albrecht, P. Maya-Pelzer, P. Hanrath, K. Zerres, and R. Hoffmann, "Relation between the angiotensinogen (AGT) M235T gene polymorphism and blood pressure in a large, homogeneous study population.," *J Hum Hypertens*, vol. 17, no. 8, pp. 555–559, Aug. 2003.
- [102] J. Parenica, M. P. Goldbergova, P. Kala, J. Jarkovsky, M. Poloczek, J. Manousek, K. Prymusova, L. Kubkova, D. Tomeikova, O. Toman, M. Tesak, J. Tomandl, A. Vařkř, and J. Spinar, "ACE gene insertion/deletion polymorphism has a mild

- influence on the acute development of left ventricular dysfunction in patients with ST elevation myocardial infarction treated with primary PCI.," *BMC Cardiovasc Disord*, vol. 10, no. 1, p. 60, 2010.
- [103] P. Sharma, "Meta-analysis of the ACE gene in ischaemic stroke.," *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.*, vol. 64, no. 2, pp. 227–230, Feb. 1998.
 - [104] Y. Chen, S. Dong, M. He, T. Qi, and W. Zhu, "Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and risk of myocardial infarction in an updated meta-analysis based on 34993 participants.," *Gene*, vol. 522, no. 2, pp. 196–205, Jun. 2013.
 - [105] A. Jujić, P. M. Nilsson, G. Engström, B. Hedblad, O. Melander, and M. Magnusson, "Atrial natriuretic peptide and type 2 diabetes development--biomarker and genotype association study.," *PLoS ONE*, vol. 9, no. 2, p. e89201, 2014.
 - [106] V. Cannone, G. Boerrigter, A. Cataliotti, L. C. Costello-Boerrigter, T. M. Olson, P. M. McKie, D. M. Heublein, B. D. Lahr, K. R. Bailey, M. Aversa, M. M. Redfield, R. J. Rodeheffer, and J. C. Burnett, "A genetic variant of the atrial natriuretic peptide gene is associated with cardiometabolic protection in the general community.," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 58, no. 6, pp. 629–636, Aug. 2011.
 - [107] M. Verdoia, G. D. Luca, the Novara Atherosclerosis Study Group (NAS), "The Inconclusive Results of the Studies on Glycoprotein IIIa Platelet Receptor Gene Polymorphism and Coronary Artery Disease: An Area of Darkness.," *Angiology*, Aug. 2014.
 - [108] M. E. Danoviz, A. C. Pereira, J. G. Mill, and J. E. Krieger, "Hypertension, obesity and GNB 3 gene variants.," *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, vol. 33, no. 3, pp. 248–252, Mar. 2006.
 - [109] E. Poch, V. Giner, D. González-Núñez, E. Coll, J. Oriola, and A. de la Sierra, "Association of the G protein beta3 subunit T allele with insulin resistance in essential hypertension.," *Clin. Exp. Hypertens.*, vol. 24, no. 5, pp. 345–353, Jul. 2002.
 - [110] W. Siffert, "G protein polymorphisms in hypertension, atherosclerosis, and diabetes.," *Annu. Rev. Med.*, vol. 56, no. 1, pp. 17–28, 2005.