

Krzysztof Chlebus

**Wartość prognostyczna analizy polimorfizmu genów układu renina-angiotensyna,
glikoprotein płytkowych oraz przedsionkowego czynnika natriuretycznego
w przewidywaniu częstości występowania incydentów sercowo-naczyniowych
w kohorcie pracowników Portu Gdańskiego w 8- letniej obserwacji**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: Prof. dr hab. med. Andrzej Rynkiewicz

I Katedra i Klinika Kardiologii Instytutu Kardiologii

Akademii Medycznej w Gdańsku

Gdańsk 2007

Panu Profesorowi Andrzejowi Rynkiewiczowi, promotorowi niniejszej pracy, składam serdeczne podziękowanie za inspirację do podjęcia badań oraz wszechstronną pomoc przy jej realizacji.

Bardzo dziękuję za okazaną pomoc:

Panu Profesorowi Januszowi Limonowi oraz kierowanemu przez niego Zespołowi Katedry i Zakładu Biologii i Genetyki AM w Gdańsku,

Panu Docentowi Marcinowi Gruchale za cenne pomysły i życzliwy krytycyzm,

Szczególnie wdzięczny jestem Kochanej Żonie Izabeli za nieustające wsparcie i wyrozumiałość.

Dziękuję również moim Rodzicom oraz Bratu, za stworzenie klimatu sprzyjającego realizacji marzeń.

Spis treści

I. WYKAZ NAJCZĘŚCIEJ UŻYWANYCH SKRÓTÓW	4
II. WSTĘP	5
2.1. Epidemiologia chorób układu sercowo- naczyniowego	5
2.2. Rola czynników genetycznych w chorobach układu sercowo- naczyniowego	8
2.2.1 Jednogenowe choroby związane z wysokim stężeniem cholesterolu LDL	9
2.2.2 Jednogenowe formy nadciśnienia tętniczego	10
2.2.3 Kardiomiopatia przerostowa	13
2.2.4 Genetycznie uwarunkowane zaburzenia rytmu	13
2.2.5 Jednogenowe formy zaburzeń w układzie krzepnięcia	14
2.2.6 Wielogenowy charakter chorób układu sercowo- naczyniowego	15
2.3. Metodyka badań chorób o podłożu wieloczynnikowym	17
2.3.1 Badania bliźniąt jedno i dwujajowych	17
2.3.2 Badania rodzinne	18
2.3.3 Badania populacyjne	18
2.3.4 Badania wielogenowego podłoża chorób układu sercowo- naczyniowego przy wykorzystaniu markerów genetycznych	18
2.4. Wybrane polimorfizmy genów z układu renina-angiotensyna-aldosteron	19
2.5. Polimorfizm <i>PLA1A2</i> genu glikoproteiny płytkowej <i>GPIIIa</i>	21
2.6. Polimorfizm <i>T2238C</i> genu przedsionkowego peptydu natriuretycznego (<i>ScaI A2/A1 ANP</i>)	22
III. CEL BADAŃ I GŁÓWNE HIPOTEZY BADAWCZE	25
IV. MATERIAŁ I METODY	26
4.1. Badana grupa	26
4.2. Dane kliniczne	26
4.3. Izolacja DNA i badania molekularne	28
4.3.1 Polimorfizm <i>I/D ACE</i>	28
4.3.2 Polimorfizm <i>A1166C</i> genu receptora <i>ATI</i>	28
4.3.3 Polimorfizm <i>PLA1/PLA2</i> genu glikoproteiny płytkowej <i>GPIIIa</i>	29
4.3.4 Polimorfizm <i>ScaI</i> genu przedsionkowego peptydu natriuretycznego (<i>ScaI ANP</i>)	29
4.4. Metody analizy statystycznej	30

V. WYNIKI	31
5.1. Związek podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego naczyniowego ze zgonami	32
5.2. Związek podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego ze zgonami z przyczyn sercowo- naczyniowych	33
5.3. Związek podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego z przebyłym zawałem mięśnia sercowego	34
5.4. Związek podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego z rozpoznaną chorobą wieńcową	35
5.5. Związek podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego ze zgonem lub przebyłym zawałem mięśnia sercowego	36
5.6. Związek podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego ze zgonem z przyczyn sercowo- naczyniowych lub przebyłym zawałem mięśnia sercowego	37
5.7. Związek podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego ze zgonem, przebyłym zawałem mięśnia sercowego lub rozpoznaną chorobą wieńcową	38
5.8. Związek podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego ze zgonem z przyczyn sercowo- naczyniowych, przebyłym zawałem mięśnia sercowego lub rozpoznaną chorobą wieńcową	39
5.9. Związek podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego z rozpoznaną przedwczesną (K<65, M<55r.ż.) chorobą wieńcową.	40
5.10. Związek podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego z dodatnim wywiadem w kierunku chorób układu sercowo- naczyniowego wśród krewnych pierwszego stopnia	41
5.11. Polimorfizm insercyjno/delecyjny genu enzymu konwertującego angiotensynę I (<i>I/D ACE</i>)	42
5.12. Polimorfizm <i>A1166C</i> genu receptora angiotensyny II typu 1 (<i>A1166C AT1R</i>)	47
5.13. Polimorfizm <i>T2238C</i> genu przedsionkowego peptydu natriuretycznego (<i>ScaI A2/A1 ANP</i>)	52
5.14. Polimorfizm <i>Leu 33/Pro</i> genu glikoproteiny płytkowej <i>IIIa</i> (<i>PlA1/PlA2 GPIIIa</i>)	56

5.15. Rozkład genotypów polimorfizmu <i>I/D</i> genu <i>ACE</i> a inne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego	62
5.16. Rozkład genotypów polimorfizmu <i>A1166C</i> genu receptora angiotensyny II typu 1 (<i>A1166C AT1R</i>) a inne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego	63
5.17. Rozkład genotypów polimorfizmu <i>ScaI A1/A2 ANP</i> a inne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego	64
5.18. Rozkład genotypów polimorfizmu <i>PLA1/PLA2 GPIIIa</i> a inne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego	65
VI. DYSKUSJA	66
6.1. Podstawowe czynniki ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego w badanej grupie	66
6.2. Polimorfizm <i>I/D ACE</i>	70
6.3. Polimorfizm <i>A1166C</i> genu <i>AT1R</i>	77
6.4. Polimorfizm <i>ScaI A1/A2</i> genu <i>ANP</i>	79
6.5. Polimorfizm Leu33/Pro genu glikoproteiny płytkowej IIIa (<i>PLA1/PLA2 GPIIIa</i>)	82
VII. PODSUMOWANIE WYNIKÓW I WNIOSKI	86
VIII. STRESZCZENIE	87
IX. PIŚMIENNICTWO	90

I. WYKAZ NAJCZĘŚCIEJ UŻYWANYCH SKRÓTÓW

ACC	-	<i>American College of Cardiology</i>
ACE	-	enzym konwertujący angiotensynę I (<i>angiotensin-converting enzyme</i>)
AHA	-	<i>American Heart Association</i>
ANP	-	przedsiolkowy peptyd natriuretyczny (<i>atrial natriuretic peptide</i>)
AT1R	-	receptor dla angiotensyny II typu 1 (<i>angiotensin II type 1 receptor</i>)
BMI	-	wskaźnik masy ciała (<i>body mass index</i>)
CAD	-	choroba wieńcowa serca (<i>coronary artery disease</i>)
CI	-	przedział ufności (<i>confidence interval</i>)
CVD	-	choroby sercowo-naczyniowe (<i>cardio vascular disease</i>)
D	-	allel delecyjny (<i>deletion</i>)
DBP	-	rozkurczowe ciśnienie tętnicze (<i>diastolic blood pressure</i>)
DNA	-	kwas deoksyrybonukleinowy (<i>deoxyribonucleic acid</i>)
ESC	-	Europejskie Towarzystwo Kardiologiczne (<i>European Society of Cardiology</i>)
GPIIIa	-	glikoproteina płytkowa IIIa (<i>platelet glycoprotein IIIa</i>)
HDL	-	lipoproteiny o wysokiej gęstości (<i>high density lipoproteins</i>)
HDL-C	-	cholesterol frakcji HDL
I	-	allel insercyjny (<i>insertion</i>)
LDL	-	lipoproteiny o niskiej gęstości (<i>low density lipoproteins</i>)
LDL-C	-	cholesterol frakcji LDL
OR	-	iloraz szans (<i>odds ratio</i>)
PTCA	-	przezskórna angioplastyka wieńcowa (<i>percutaneous transluminal coronary angioplasty</i>)
PCR	-	łańcuchowa reakcja polimerazy DNA (<i>polymerase chain reaction</i>)
RLFP	-	polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (<i>restriction fragment length polymorphism</i>)
RAA	-	renina-angiotensyna- aldostron
SBP	-	skurczowe ciśnienie tętnicze (<i>systolic blood pressure</i>)
TC	-	cholesterol całkowity
WHR	-	stosunek obwodu pasa do obwodu bioder (<i>waist to hip ratio</i>)
vs	-	versus

II. WSTĘP

2.1. Epidemiologia chorób układu sercowo- naczyniowego

Mianem chorób układu sercowo- naczyniowego wg klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia określamy grupę schorzeń obejmującą m.in. chorobę niedokrwienną serca, udar mózgu (niedokrwienny oraz krwotoczny), zmiany w mięśniu sercowym wtórne do nadciśnienia tętniczego, choroby reumatycznej oraz innych chorób zapalnych oraz choroby naczyń obwodowych. Choroba wieńcowa, zwana również chorobą niedokrwienną serca stanowi kliniczną manifestację dysproporcji w zapotrzebowaniu i możliwości zaopatrzenia mięśnia sercowego w tlen. U podłoża niedokrwienia leżą najczęściej zmiany miażdżycowe ograniczające dopływ krwi, znacznie rzadziej zaś inne przyczyny zężające światło naczyń (zapalenia tętnic, uszkodzenia mechaniczne, tętniak rozwarstwiający aorty obejmujący tętnice wieńcowe itd.). Miażdżycowa etiologia jest również najczęstszą przyczyną udarów mózgu oraz chorób naczyń obwodowych.

Choroby układu krążenia stanowią od kilku dziesięcioleci najczęstszą przyczynę zgonów w krajach Europy i Ameryce Północnej. W 2002 roku z powodu chorób układu sercowo- naczyniowego zmarło na świecie 16,7 mln ludzi, w tym z powodu choroby wieńcowej 7, 2 mln, zaś z powodu udarów 5,5 mln.(1) Dane amerykańskie mówią o ponad milionie zgonów z powodu chorób układu sercowo- naczyniowego każdego roku, z czego prawie połowa przypada na zgony z powodu choroby wieńcowej, zaś jedna piąta na udary mózgu. (2)

Śmiertelność z powodu choroby niedokrwiennej serca w roku 2000 szacuje się w Europie Zachodniej dla kobiet na poziomie 74 na 100 tys. mieszkańców i dla mężczyzn 155 na 100 tys. mieszkańców. Dla Europy środkowo- wschodniej parametry te wynoszą odpowiednio: dla kobiet 146 zgonów na 100 tys. mieszkańców z powodu CAD i dla mężczyzn 261 zgonów na 100 tys. mieszkańców. W naszym kraju tylko w roku 2001 zmarło z powodu chorób układu krążenia 173, 8 tys. osób, co stanowiło 48% wszystkich zgonów. Odnosząc to do przytoczonych wcześniej współczynników dla Europy konstatujemy, że współczynnik umieralności dla mężczyzn wynosił w Polsce w roku 2001 441/ 100 tys. mieszkańców, zaś dla kobiet 458,5/ 100 tys. mieszkańców. Mimo utrzymujących się od początku lat 90-tych tendencji spadkowych umieralności z powodu chorób układu krążenia w roku 2002 standaryzowane na wiek wskaźniki umieralności były w Polsce nadal prawie dwukrotnie wyższe niż średnio w krajach Unii Europejskiej: 519 na

100 tys. dla mężczyzn w Polsce w stosunku do średniej europejskiej na poziomie 298 na 100 tys. oraz 331 na 100 tys. dla polskich kobiet w porównaniu ze średnią europejską 192 na 100 tys.(3)

Warto podkreślić fakt, że choroby układu sercowo- naczyniowego stanowią główną przyczynę umieralności przedwczesnej. Tylko w roku 2001 zmarło z tego powodu 31,2 tys. osób w przedziale wieku od 25 do 64 lat, w tym 23,2 tys. mężczyzn oraz 8,0 tys. kobiet. Oznacza to, że 32% ogółu zmarłych przedwcześnie mężczyzn i 27,5 % ogółu zmarłych przedwcześnie kobiet zmarło z powodu chorób układu krążenia (ogólnie dla obu płci 31% zgonów).

Dane Europejskiego Biura Regionalnego Światowej Organizacji Zdrowia z 2003 roku poziom umieralności przedwczesnej z powodu chorób układu krążenia jest w Polsce wyższy około dwu i półkrotnie niż w większości leżących na zachód od Polski krajów Unii Europejskiej. Oznacza to dla polskiej populacji wyższy o 160% współczynnik umieralności dla mężczyzn oraz o 130 % dla kobiet. (1)

Przytoczone dane epidemiologiczne odzwierciedlają skalę problemu oraz uzasadniają priorytetowe traktowanie chorób układu krążenia zarówno przez lekarzy, jak i decydentów kreujących politykę zdrowotną w poszczególnych krajach. Z dotychczasowych doświadczeń wynika, że warunkiem uzyskania znaczących efektów w zakresie zmniejszenia śmiertelności z powodu chorób układu krążenia jest prowadzenie kompleksowych działań w zakresie prewencji, diagnostyki oraz terapii. Do zaplanowania i przeprowadzenia skutecznych działań w zakresie prewencji oraz diagnostyki niezbędne jest przede wszystkim zdefiniowanie czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego oraz znajomość ich rozpowszechnienia w populacji. Badanie zależności między genetycznymi a środowiskowymi czynnikami ryzyka jest kolejnym istotnym krokiem w kierunku pełniejszego zrozumienia patomechanizmów generujących epidemię chorób sercowo- naczyniowych.

Warto zauważyć, że w Stanach Zjednoczonych od drugiej połowy lat 60-tych, zaś w Polsce od 1991 odnotowano tendencję do stopniowego, ale stałego spadku śmiertelności z powodu choroby niedokrwiennej serca. W naszym kraju oznaczało to w 1994 roku redukcję śmiertelności z powodu wszystkich chorób układu krążenia o 17% wśród kobiet i 19% wśród mężczyzn, z powodu choroby niedokrwiennej serca wśród kobiet i mężczyzn odpowiednio o 25% i 26 %, zaś z powodu udaru o 4% i 8% w porównaniu z okresem 1980-1991 (wszystkie dane w odniesieniu do populacji w wieku od 45 do 64 roku życia)(4).Głównym powodem tych znaczących zmian epidemiologicznych nie są w

pierwszym rzędzie postępy medycyny naprawczej, lecz modyfikacje w stylu życia, głównie w zakresie rodzaju spożywanych tłuszczów oraz wzrostu spożycia warzyw i owoców (4). Zgodne obserwacje w tym zakresie są obecne w publikacjach wielu autorów (4,5,6)

Czynniki zwiększające ryzyko zachorowania na choroby układu sercowo-naczyniowego nazywamy czynnikami ryzyka. Wpływ czynników ryzyka uwidacznia się z różną siłą w różnych okresach życia, przy czym pewne czynniki ryzyka stanowią indywidualne cechy osobnicze, niepoddające się modyfikacji, pewne zaś są modyfikowalne np. cechy biochemiczne i fizjologiczne oraz czynniki związane ze stylem życia. Jakkolwiek wystąpienie tylko jednego czynnika ryzyka zwiększa w określony sposób ryzyko zachorowania i zgonu z powodu chorób ukł. sercowo- naczyniowego, w praktyce obserwujemy na ogół narażenie na co najmniej dwa lub więcej czynników ryzyka. Do czynników ryzyka modyfikowalnych, związanych ze stylem życia zaliczamy m.in. dietę wysokokaloryczną, obfitującą w tłuszcze nasycone i cholesterol, palenie tytoniu, nadmierne spożycie alkoholu oraz małą aktywność fizyczną. Do modyfikowalnych czynników ryzyka w zakresie cech biochemicznych i fizjologicznych zaliczamy: podwyższone stężenie cholesterolu ogólnego i LDL- cholesterolu w surowicy, podwyższone ciśnienie tętnicze krwi, niskie stężenie HDL – cholesterolu, podwyższone stężenie trójglicerydów, hiperglikemię, cukrzycę, otyłość, czynniki trombogenne. Wśród cech indywidualnych nie poddających się modyfikacji wymienić należy: wiek, płeć męską, wczesne występowanie choroby niedokrwiennej serca, lub innych chorób naczyniowych na tle miażdżycy w rodzinie (u mężczyzn przed 55 r.ż., u kobiet przed 65 r.ż.) oraz zachorowania na inne choroby naczyniowe na tle miażdżycy.

Na obecnym poziomie wiedzy dysponujemy przekonującymi dowodami naukowymi na wieloczynnikową naturę chorób układu sercowo- naczyniowego. Do najważniejszych czynników ryzyka zaliczamy: wiek, płeć męską, nieprawidłowy profil lipidowy (dyslipidemie), nadciśnienie tętnicze, palenie tytoniu, zaburzenia przemiany węglowodanowej, otyłość, brak aktywności fizycznej, obciążenia genetyczne, hiperhomocysteinemię, podwyższone stężenie kwasu moczowego w surowicy, podwyższone stężenie fibrynogenu, czynnika von Willebrandta i VII czynnika krzepnięcia (7,8). Potwierdzenie znaczenia klinicznego wymienionych czynników ryzyka uzyskano w wielu kolejnych badaniach obserwacyjnych i interwencyjnych próbach klinicznych oraz meta-analizach (9,10,11,12,13,14,15). Zdefiniowanie i umiejętność identyfikacji czynników ryzyka w odniesieniu do pojedynczych chorych jak i całych populacji

umożliwia opartą na faktach medycznych ocenę ryzyka wystąpienia choroby niedokrwiennej serca lub zgonu z przyczyn sercowo- naczyniowych. Znalazło to odzwierciedlenie w funkcjonujących w praktyce lekarskiej algorytmach oceny ryzyka *The Prospective Cardiovascular Munster Study* (PROCAM)(16,17), PRECARD (18), czy SCORE, którego polska wersja została udostępniona do powszechnego użytku we wrześniu 2006 roku (19).

Otwiera również przed lekarzami jak i decydentami ochrony zdrowia unikalne możliwości kreowania świadomej polityki prewencyjnej zmierzającej do zmniejszania zachorowalności i umieralności z powodu chorób układu sercowo- naczyniowego.

2.2. Rola czynników genetycznych w chorobach układu sercowo- naczyniowego

Obserwacje dotyczące wrodzonej podatności ludzi na zachorowanie na pewne choroby, w tym choroby układu sercowo- naczyniowego towarzyszyły ludziom od dawna, wyprzedzając nawet niekiedy spostrzeżenia dotyczące wpływu czynników środowiskowych. Do dziś informacja o rodzinnym występowaniu określonych chorób stanowi stały i istotny element podmiotowego badania lekarskiego. Fakt większego prawdopodobieństwa wystąpienia choroby wieńcowej u osób, których najbliżsi krewni są obciążeni pozytywnym wywiadem w zakresie tej choroby znalazł potwierdzenie w licznych badaniach naukowych (20). Ostatnie lata obfitują w doniesienia rozszerzające listę genów odgrywających istotną rolę w etiologii miażdżycy, nadciśnienia tętniczego, kardiomiopatii rozstrzeniowej czy przerostowej(21). Bardzo istotnym krokiem do poszerzenia naszej wiedzy o genetycznym podłożu schorzeń jest zakończone w roku 2000 opisywanie sekwencji wszystkich genów w genomie ludzkim (22). Udokumentowano już dobrze sytuacje, gdy za schorzenie odpowiada mutacja pojedynczego genu. Opisanie mechanizmów molekularnych w tych występujących stosunkowo rzadko schorzeniach umożliwia zrozumienie patomechanizmów leżących u podstaw bardziej rozpowszechnionych chorób układu sercowo- naczyniowego o wielogenowej naturze, które z genetycznego punktu widzenia są znacznie bardziej złożone.

Do najlepiej poznanych schorzeń u podłoża, których leży mutacja pojedynczego genu należą:

1. choroby związane z wysokim stężeniem cholesterolu LDL.
2. jednogenowe formy nadciśnienia tętniczego
3. jednogenowe formy zaburzeń w układzie krzepnięcia

4. kardiomiopatia przerostowa
5. wybrane zaburzenia rytmu (23)

2.2.1. Monogenowe choroby związane z wysokim stężeniem cholesterolu LDL

Wspólnym efektem fenotypowym wszystkich mutacji jednogenowych jest podwyższenie poziomu LDL cholesterolu w surowicy, czy to na skutek wadliwej budowy wątrobowego receptora LDL, czy też defektu apolipoproteiny B, będącej ligandem receptora LDL

Hipercholesterolemia rodzinna to pierwsze schorzenie monogenowe, dla którego udowodniono związek między wzrostem poziomu cholesterolu w surowicy krwi a warunkowanym genetycznie deficytem receptora dla *LDL*- cholesterolu. Opisano dotychczas ponad 800 różnych mutacji receptora *LDLR* (*low density lipoprotein receptor*). Częstość występowania w populacji szacuje się jak 1:500 dla heterozygot i 1: 1 000 000 dla homozygot. Chorzy heterozygotyczni posiadają połowę prawidłowej ilości receptorów LDL, co klinicznie manifestuje się 2 do 3- krotnym wzrostem poziomu cholesterolu we krwi. Pacjenci homozygotyczni charakteryzują się klinicznie bardzo dużym, 6- do 10- krotnym wzrostem stężeń cholesterolu, co wiąże się z bardzo wysokim ryzykiem wczesnej choroby wieńcowej i zgonem w okresie dziecięco- młodzieńczym z powikłań sercowo- naczyniowych.

Podobny obraz kliniczny, przy innym podłożu genetycznym charakteryzuje **rodzinny defekt lipoproteiny B-100** (24). Mutacja genu *APOB-100*, kodującego apolipoproteinę B-100, zaburza łączenie apolipoproteiny B-100 z receptorem LDL, co skutkuje pogorszeniem możliwości transportu lipoprotein, a w rezultacie wzrostem absorpcji cholesterolu i produkcji cząsteczek LDL. Częstość występowania w populacji to 1: 1000, zaś konsekwencje kliniczne są równie niekorzystne jak w przypadku hipercholesterolemii rodzinnej.

Sitosterolemia, jest stosunkowo rzadką chorobą o charakterze autosomalnym. Mutacja powoduje zaburzenie funkcji genów odpowiedzialnych za działanie czynników transportujących typu ATP- binding cassette (ABC), *ABCG5* i *ABCG8* (25), umożliwiających wydzielanie cholesterolu do światła jelit, a przez to zmniejszone jego wchłanianie.

Bardzo rzadkim schorzeniem jest występująca raz na 10 milionów urodzeń **autosomalna recesywna hipercholesterolemia**. Przyczyną choroby jest mutacja genu

AHR kodującego wątrobowe białko adaptujące (*hepatic adapter protein*), czego efektem są zaburzenia wychwytu LDL z surowicy przez wątrobowe receptory LDL(26). Klinicznie oznacza to wzrost poziomów LDL cholesterolu do bardzo wysokich wartości porównywalnych z homozygotyczną postacią hipercholesterolemii rodzinnej.

Trudno przecenić znaczenie badań nad monogenowymi schorzeniami, których istota wynika z zaburzeń szlaków metabolicznych związanych z receptorem LDL. Dzięki zrozumieniu procesów metabolizmu cholesterolu możliwe było wskazanie docelowych punktów uchwytu terapii obniżającej poziom cholesterolu w surowicy. Klinikną implikacją tej wiedzy jest wprowadzenie terapii statynami do codziennej praktyki lekarskiej.

Tabela 1. Monogenowe choroby związane z wysokim stężeniem cholesterolu LDL.

Choroba	Zmutowany gen	Przybliżone stężenie cholesterolu mg/dl
Rodzinna hipercholesterolemia	<i>LDLR</i>	
homozygoty		300
heterozygoty		650
Rodzinny defekt lipoproteiny B-100	<i>APOB-100</i>	
homozygoty		275
heterozygoty		325
Autosomalna recesywna hipercholesterolemia	<i>ARH</i>	450
Sitosterolemia	<i>ABCG5 i ABCG8</i>	150-650

2.2.2. Jednogenowe formy nadciśnienia tętniczego

Ciśnienie tętnicze jest najczęściej fenotypem zależnym od złożonych wpływów środowiska na ekspresję mnogich genów. Ekspresja genu jest modyfikowana zarówno przez inne czynniki genetyczne jak i środowiskowe działające na poziomie zarówno komórkowym, jak i całego organizmu.

Wszystko to w istotny sposób zmniejsza wpływ pojedynczego genu na wysokość ciśnienia tętniczego. Stąd analiza mutacji genetycznych rzadko występujących form nadciśnienia tętniczego dziedziczonych zgodnie z prawami Mendla, u podłoża których leżą

mutacje pojedynczych genów są niezwykle pomocne w zrozumieniu złożonej patogenezy tego schorzenia.

Mutacje upośledzające nerkowe mechanizmy regulacji gospodarki sodowej stanowią istotny element zrozumienia patogenezy nadciśnienia tętniczego na poziomie molekularnym.

Pseudohypoaldosteronizm typu II, schorzenie o charakterze autosomalnym dominującym klinicznie manifestuje się nadciśnieniem, hiperkalemią, zwiększoną reabsorpcją nerkową sodu oraz zaburzeniami w wydalaniu potasu i jonu wodorowego. Mutacje dwóch genów kodujących białka rodziny WNK1 serynowej kinazy treoninowej o charakterze intronowej delecji na chromosomie 12p odpowiadają za pseudohypoaldosteronizm typu II (27). Do identycznych objawów doprowadzają również mutacje zmiany sensu w locus hWNK4, na chromosomie 17. W wyniku zmian strukturalnych w białkach WNK1 dochodzi do wzrostu przepuszczalności sodu w cewkach zbiorczych oraz większej jego reabsorpcji i wtórnie wzrostu objętości osocza oraz spadku wydzielania potasu i jonu protonowego.

Aldosteronizm podatny na leczenie glikokortykosterydami dziedziczony w sposób autosomalny dominujący, manifestuje się w obrazie klinicznym wczesnym wystąpieniem nadciśnienia tętniczego, niską aktywnością reninową oraz prawidłowym lub podwyższonym stężeniem aldosteronu. U podłoża schorzenia leży duplikacja materiału genetycznego odpowiedzialnego za kodowanie sekwencji enzymów ze szlaku biosyntezy sterydów (syntazy aldosteronu i 11β -hydroksylazy)(28, 29). Gen – chimera powstały na skutek nierównej wymiany między dwoma genami odpowiada za produkcję syntazy aldosteronu wydzielana ektopowo w warstwie pasmowatej kory nadnerczy i nie podlegającej regulacji za pośrednictwem angiotensyny II.

Zespół Liddle'a jest związany z mutacją genu nabłonkowego kanału sodowego w cewkach nerkowych i jest dziedziczony w sposób autosomalny dominujący (30,31). W obrazie klinicznym dominuje wczesny rozwój nadciśnienia tętniczego, alkalozы hipokalemicznej oraz zahamowanie aktywności reninowej współistniejące z niskim stężeniem aldosteronu w osoczu.

W **zespole Gitelmans'a** mamy do czynienia z mutacją genu o lokalizacji 16q 13 kodującego białko odpowiedzialne za transport sodowo- chlorkowy przez kanał tiazydoozależny w części dystalnej cewek zbiorczych (32). Kliniczna manifestacja zespołu to hipermagnezuria z hipomagnezją, hipokalciuria oraz zasadowica hipokaliemiczna. Typowy jest również wzrost aktywności układu RAA.

Zespół Bartera jest schorzeniem niejednorodnym pod względem genetycznym. Mutacja może wystąpić na poziomie genu kodującego kotransport sodowo- potasowy, zlokalizowanego na chromosomie 15q 15-21 (typ I), na poziomie kanału potasowego ROMK, lokalizacja genu na chromosomie 11q21-25 (typ II) lub na poziomie kanału chlorkowego CLCNKB ramienia wstępującego pętli Henlego (typ III). Do najczęściej obserwowanych objawów należą: wzrost wydalania sodu i potasu, zasadowica hipokaliemiczna, prawidłowe stężenie magnezu w osoczu oraz wzrost aktywności układu RAA(33).

Znajomość etiologii zaburzeń w regulacji ciśnienia tętniczego warunkowanych mutacjami pojedynczych genów stanowi cenny element wiedzy o patomechanizmach nadciśnienia tętniczego w ogóle oraz wskazuje potencjalne punkty uchwytu dla terapii hipotensyjnej.

Tabela 2. Jednogenowe formy nadciśnienia tętniczego

Choroba	Gen lub locus	Dziedziczenie
Niedobór 11 β -hydroksylazy steroidowej	<i>CYP11B1</i>	Autosomalne recesywne
Niedobór 17 α -hydroksylazy steroidowej	<i>CYP17</i>	Autosomalne recesywne
Zespół Liddle'a	<i>Podjednostka β lub γ ENaC</i>	Autosomalne dominujące
Pozorny nadmiar mineralokortykosteroidów (AME)	<i>11β-HSD2</i>	Autosomalne recesywne
Mutacja S810L genu receptora mineralokortykosteroidów	<i>MR</i>	Autosomalne dominujące
Rodzinny hiperaldosteronizm typu I (FH-I, GRA)	<i>Gen chimeryczny CYP11B1/B2</i>	Autosomalne dominujące
Rodzinny hiperaldosteronizm typu II (FH-II)	<i>7p22</i>	Autosomalne dominujące
Zespół Gordona (PHAII)	<i>1q31-q42 WNK1 (12p13.3) WNK4 (17p11-q21)</i>	Autosomalne dominujące
Nadciśnienie z brachydaktylią	<i>12p</i>	Autosomalne dominujące

2.2.3. Kardiomiopatia przerostowa

Kardiomiopatia przerostowa jest schorzeniem dziedziczonym w sposób autosomalny dominujący. Szacunkowa częstość występowania to ok. 1:500 (34), co sprawia, że jest najczęstszym monogenowym schorzeniem kardiologicznym. Stanowi również najczęstszą przyczynę nagłej śmierci sercowej wśród dzieci i młodzieży (35). Mutacji ulegają geny kodujące ok. 10 różnych elementów białek sarkomeru mięśnia sercowego (36) m.in. sercową troponinę I, sercowe białko wiążące miozynę, sercową troponinę T, sercowe białko C, łańcuch ciężki sercowej β -miozyny, α -tropomiozynę, regulatorowe łańcuchy lekkie oraz sercową aktynę.

Typowy obraz kliniczny kardiomiopatii przerostowej obejmuje znaczny przerost przy relatywnie małej jamie lewej komory, pogrubienie przegrody międzykomorowej, powiększenie lewego przedsionka. Mechanizm wpływu zmutowanych genów na przerost mięśnia sercowego jest wciąż niejasny i pozostaje przedmiotem badań, to opisano już ponad 100 mutacji bezspornie związanych z tą jednostką chorobową (37). Mnogość mutacji oznacza zmienność przebiegu choroby i jej rokowania np. zamiana argininy na glutaminę w pozycji 403 (Arg403Gln) oraz argininy na tryptofan w pozycji 719 (Arg719Trp) jest czynnikiem ryzyka nagłego zgonu i niewydolności serca, zaś zastąpienie fenyloalaniny cysteiną w pozycji 513 (Phe513Cys), leucyny walina w pozycji 908 (Leu908Val) i glicyny kwasem glutaminowym w pozycji 256 (Gly256Glu) jest związane ze stosunkowo łagodnym przebiegiem choroby (35,38)

2.2.4. Genetycznie uwarunkowane zaburzenia rytmu

Opisano stosunkowo wiele mutacji pojedynczych genów sprzyjających zaburzeniom rytmu, co pozwoliło na pełniejsze zrozumienie molekularnego podłoża różnych typów zaburzeń rytmu (Tabela 3). Mutacje genu *SCN5A* kodującego podjednostkę α kanału sodowego odpowiedzialnego za inicjację potencjału czynnościowego, powodują różne zaburzenia rytmu, takie jak zespół wydłużonego QT, idiopatyczne migotanie komór i zaburzenia przewodnictwa.

Tabela 3. Zespoły zaburzeń rytmu serca uwarunkowane mutacjami pojedynczych genów(39)

Choroba	Zmutowany Gen	Efekt kliniczny
Zespół wydłużonego QT	<i>SCNSA</i> wzmocnienie funkcji	zaburzenie repolaryzacji
	<i>KVLQT1</i> missens	zaburzenie repolaryzacji
	<i>minK (KCNE1)</i> utrata funkcji	zaburzenie repolaryzacji
	<i>HERG (KCNH2)</i> <i>i MiRP(KCNE2)</i>	zaburzenie repolaryzacji
Idiopatyczne trzepotanie komór	<i>SCNSA</i> utrata funkcji	zaburzenia przewodnictwa
Katecholaminergiczny różnokształtny częstoskurcz komorowy	<i>RyR2</i> missens	przeładowanie wapniem

Mutacje genów *KVLQT1*, *HERG*, *minK* oraz *MiRP-1* odpowiadają za zaburzenia w funkcjonowaniu kanałów potasowych, co w praktyce klinicznej opisuje się jako zespół wydłużonego QT, będącego wynikiem redukcji prądu repolaryzacyjnego. Taki sam obraz kliniczny mają mutacje wzmacniające (gain-of-function) genu kanału sodowego *SCN5A*. Mutacje zaburzające funkcję kanału sodowego odpowiadają za idiopatyczne migotanie komór. Mutacje genu *RyR2* kodującego receptor rianodynowy kanału uwalniającego wapń prowadzą do częstoskurczu komorowego zależnego od katecholamin. Podsumowując można uznać, że geny sprzyjające dziedzicznej podatności na zaburzenia rytmu kodują głównie białka kanałów jonowych komórek mięśnia sercowego(40)

2.2.5. Jednogenowe formy zaburzeń w układzie krzepnięcia

W wyniku mutacji typu Leiden w cząsteczce czynnika V dochodzi do zamiany argininy w pozycji 506 na glutaminę, co uniemożliwia degradację czynnika V i sprzyja formowaniu się skrzepliny. Częstość tej mutacji wśród pacjentów z żylną chorobą zakrzepowo- zatorową jest bardzo wysoka: szacunkowo od 20% do 50 % (41, 42, 43).

Udokumentowano fakt dodatniej korelacji czynnika V Leiden większą częstością występowania zawału serca, udaru mózgu i choroby zakrzepowej w układzie żylnym. (44)

2.2.6. Wielogenowy charakter chorób układu sercowo- naczyniowego

Podkreślić jednak należy, że w przeważającej większości choroby układu sercowo-naczyniowego są chorobami o podłożu wielogenowym. Wobec faktu, że w schorzeniach poligenowych pojedynczy wariant genetyczny powoduje zwykle tylko minimalne lub niewielkie zwiększenie ryzyka, to w zależności od stopnia kumulacji określonych polimorfizmów genetycznych obserwujemy w praktyce klinicznej całe spektrum postaci i stadiów choroby. Doskonałym przykładem ilustrującym złożoność problemów badawczych pojawiających się w obliczu takiej sytuacji jest miażdżycy, widziana z patofizjologicznego punktu widzenia jako wieloetapowy proces postępujący w czasie, obejmujący interakcję wielu skomplikowanych szlaków biochemicznych metabolizmu lipoprotein, zapalenia i krzepnięcia. Funkcje białkowych produktów polimorfizmów genowych w każdym z tych szlaków metabolicznych mogą ulegać mniej lub bardziej istotnym zmianom, co w określony sposób rzutuje na zakłócenia równowagi homeostatycznej. Modulowanie ryzyka jest tym bardziej skomplikowane, że wpływają na nie czynniki jak cukrzyca, nadciśnienie tętnicze czy otyłość, które same stanowią przykłady cech wielogenowych.

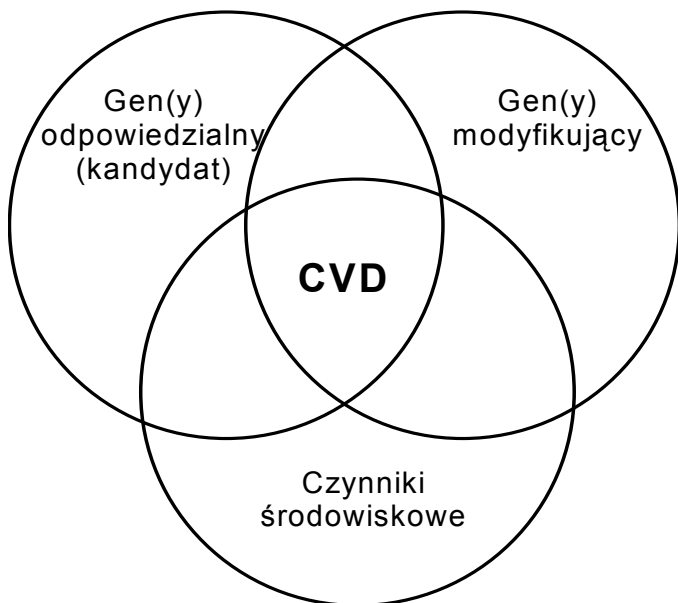
W literaturze funkcjonują opisy dwóch modeli odzwierciedlających skrajnie różne poglądy na naturę genetyczną częstych populacyjnie chorób poligenowych. Model: „częsta choroba- częsty wariant” opisuje występowanie i wzajemną interakcję częstych alleli w ograniczonej ilości loci (45). Konkurencyjna hipoteza: „wiele locus- wiele alleli” zakłada wywołanie choroby przez wiele rzadkich alleli występujących w dużej ilości loci (45). Choroba niedokrwienności serca wydaje się łączyć cechy obydwu modeli. Praktyczne znaczenie takich rozważań wiąże się z metodologią badań molekularnych: jeśli większość przypadków choroby jest spowodowana częstymi wariantami alleli w ograniczonej ilości loci, to ustalenie poligenowego charakteru choroby będzie znacznie mniej czasochłonne. Przewaga drugiego wariantu tj. wiele rzadkich alleli w dużej liczbie loci oznacza ogromny wzrost nakładu czasu pracy i stawia pod znakiem wątpliwości opłacalność takich badań. W dotychczasowych doniesieniach dla choroby niedokrwiennej serca przeważa obraz choroby, u podłoża której leży mała liczba powszechnie występujących alleli (tabela 4)(46)

Tabela 4.

Gen/polimorfizm	Genotyp związany z ryzykiem	Liczba badań (liczba przypadków)	Wielkość efektu (95%CI)
GP IIIb/IIIa	A2+	34(6173)	1,13(1,02-1,26)
Enzym konwertujący angiotensynę (ACE) <i>I/D</i>	DD	51(15 680)	1,22(1,11- 1,35)
Angiotensynogen Met235Thr (<i>M235T</i>)	TT	21(4001)	1,19(1,10-1,30)
Białko transportowe estrów cholesterolu (<i>CETP</i>)	B2B2	7(7681)	0,78(0,66-0,93)
Apolipoproteina B(<i>APOB</i>) Białko sygnałowe Ins/Del Gln415Lys (<i>Q4154L</i>)	DD LL	22(6007) 14(1796)	1,19(1,05-1,35) 1,73(1,19-2,50)
Lipaza lipoproteinowa (<i>LPL</i>) <i>Ser/Ter(S447X)</i>	X+	4(2252)	0,80(0,7-1,0)
Apolipoproteina E (<i>APOE</i>)	E3	10(2152)	0,98(0,85-1,14)
Czynnik V Leiden R506Q	Q+	6(2390)	1,26(0,94-1,67)
Inhibitor aktywatora plazminogenu 1(<i>PAI1</i>)5G/4G	4G4G	7(2813)	1,20(1,04-1,39)
Protrombina <i>G20210A</i>	A+	19(4944)	1,21(0,99-1,59)
Reduktaza metylenotetrahydrofolianowa (<i>MTHFR</i>) <i>C677T</i>	TT	40(11162)	1,14(1,01—1,28)
Śródbłonkowa syntaza tlenu azotu (<i>eNOS</i>) <i>Glu 298</i> <i>Asp(E298D)</i>	DD	14(6036)	1,31(1,1-1,51)

Nawet jednak wysoki stopień złożoności interakcji i regulacji genetycznych nie oddaje w pełni wieloczynnikowej natury chorób ukł. sercowo- naczyniowego, ujawniającej się w interakcji czynników genetycznych ze środowiskowymi. Warto przy tym podkreślić, że środowiskowe czynniki ryzyka np. dieta wysokokaloryczna, brak aktywności fizycznej, palenie tytoniu nie ulegają prostemu sumowaniu z czynnikami genetycznymi. Wzajemne oddziaływanie między czynnikami genetycznymi i środowiskowymi ma kluczowe znaczenie dla zdeterminowania genów podatności na chorobę („context dependency”). Oznacza to, że wpływ określonego polimorfizmu genetycznego na ryzyko wystąpienia choroby, jej obraz kliniczny i przebieg jest modulowany czynnikami środowiskowymi (47, 48, 49, 50, 51). Warto również podkreślić inny aspekt charakterystyczny dla chorób o podłożu wieloczynnikowym: podobna manifestacja fenotypowa tj. klinicznie zbliżony obraz choroby może być wynikiem ekspresji wielu różnych genów. Cecha ta zwana

heterogennością dodatkowo utrudnia analizę czynników powodujących określone schorzenie oraz modyfikujących jego przebieg.



Ryc. 1 Schemat wieloczynnikowej natury chorób układu sercowo-naczyniowego.

2.3. Metodyka badań chorób o podłożu wieloczynnikowym

2.3.1 Badania bliźniąt jedno i dwujajowych

Badania bliźniąt, mimo udokumentowanej przydatności w różnicowaniu cech jednogenowych od wieloczynnikowych czysto środowiskowych, mają naturalne ograniczenie związane z trudnością zgromadzenia wystarczająco dużej grupy bliźniąt chorujących na określoną chorobę (50, 51, 52). U podstaw metodyki tych badań niezbędne było przyjęcie kilku podstawowych założeń:

- bliźnięta jednojajowe, jako genetycznie identyczne powinny charakteryzować się pełną zgodnością pod względem występowania chorób jednogenowych o pełnej penetracji.
- przy spełnieniu warunku funkcjonowania w tych samych warunkach środowiskowych, częstość występowania chorób o etiologii stricte środowiskowej powinna być taka sama zarówno wśród bliźniąt jedno- jak i dwujajowych
- u bliźniąt dwujajowych zgodność występowania cech o etiologii wieloczynnikowej jest mniejsza niż u bliźniąt jednojajowych

- ryzyko wystąpienia cechy o etiologii wieloczynnikowej jest u bliźniąt dwujajowych zbliżona do szansy wystąpienia tej cechy u pozostałego rodzeństwa bliźniąt

2.3.2 Badania rodzinne

Metodyka badań rodzinnych opiera się na ocenie częstości występowania określonych markerów genetycznych u chorych członków rodziny w porównaniu z jej zdrowymi przedstawicielami. Badanie takie, określane mianem analizy rodowodów napotyka na praktyczne utrudnienia pod postacią zebrania wystarczającej do analizy statystycznej liczby wielopokoleniowych rodzin dotkniętych określonym schorzeniem. Częstym problemem jest również brak możliwości porównań z materiałem genetycznym zmarłych członków rodziny (50, 51, 53).

2.3.3 Badania populacyjne

Istotą badań populacyjnych jest porównywanie częstości występowania markera lub markerów genetycznych wśród osób dotkniętych określonym schorzeniem i w populacji kontrolnej lub ogólnej. Znamienne częstsze występowanie badanego markera wśród osób chorych sugeruje istnienie związku między markerem a schorzeniem. Taka metoda badawcza określana jest w literaturze mianem *association studies* (50,51,53)

2.3.4 Badania wielogenowego podłoża chorób układu sercowo- naczyniowego przy wykorzystaniu markerów genetycznych

Aktualny poziom wiedzy na temat patogenezy miażdżycy, pozwala na wskazanie konkretnych produktów białkowych genów, które odgrywają istotną rolę na różnych etapach całego *continuum* postaci klinicznych od stabilnej choroby wieńcowej aż po zawał mięśnia sercowego czy udar mózgu. Geny, których warianty polimorficzne są potencjalnie zaangażowane w patogenezę schorzenia będącego obiektem badań, nazywane wspólnym określeniem: „geny kandydaci” (47,48,49,50,51). W chorobach układu sercowo-naczyniowego wyróżnić możemy kilka istotnych grup „genów kandydatów”, których produkty białkowe zaangażowane są w:

1. układ renina-angiotensyna-aldosteron (angiotensynogen, **ACE**, **receptor AT1**, syntaza aldosteronu),
2. czynniki naczynioaktywne: **ANP**, **BNP**, **CNP**
3. glikoproteiny płytkowe (**GPIIb/IIIa**, **GPIa/IIa**)
4. metabolizm lipidów (receptory lipoprotein, enzymy lipolityczne, apolipoproteiny, itp.),
5. układ krzepnięcia i trombolizy (inhibitor aktywatora plazminogenu-1 **PAI-1**, fibrynogen, czynniki krzepnięcia, itp.)

6. czynniki stanu zapalnego: (np. TNF, cytokiny)
7. czynniki migracyjne i adhezyjne dla monocytów i makrofagów,
8. czynniki proliferacji komórek mięśni gładkich naczyń
(zaznaczono geny poddane analizie w niniejszej pracy)

2.4. Wybrane polimorfizmy genów z układu renina-angiotensyna-aldosteron

Układ renina – angiotensyna- aldosteron (RAA) stanowi jeden z najistotniejszych i zarazem najlepiej poznanych układów neurohormonalnych regulujących funkcje układu sercowo- naczyniowego. Kluczową rolę w tym układzie pełni angiotensyna II, działająca wazokonstrykcyjnie, antynatriuretycznie, aktywująco na układ adrenergiczny. Istnieją dowody na to, że angiotensyna II może uszkadzać komórki śródbłonna, stymulować proliferację i migrację komórki mięśni gładkich oraz aktywować monocyty/makrofagi. Udokumentowano również stymulowanie przez angiotensynę II syntezy inhibitorów aktywatora plazminogenu typu I i II w komórkach mięśni gładkich i śródbłonna oraz działanie sprzyjające agregacji i adhezji płytek krwi. Oznacza to prozakrzepowe i potencjalnie miażdżycowe działanie angiotensyny II oraz jej udział w rozwoju nadciśnienia tętniczego i jego powikłań. Z potencjalnie miażdżycogennych działań angiotensyny II wymienić należy ponadto: indukowanie zjawiska apoptozy, pobudzanie sekrecji endoteliny oraz nasilanie procesów oksydacyjnych w ścianie naczynia poprzez zwiększanie wydzielania anionu nadtlenkowego. Istotny jest również fakt, że w codziennej praktyce klinicznej wykorzystuje się standardowo leki hamujące aktywność układu RAA: w niewydolności serca, nadciśnieniu tętniczym, w profilaktyce wtórnej i w zapobieganiu negatywnemu remodelingowi mięśnia sercowego po zawale jak również w stabilnej chorobie wieńcowej.(54,55,56,57)

Z punktu widzenia istoty dalszych rozważań zawartych w tej pracy niezbędne jest podkreślenie dwóch zasadniczych faktów z fizjologii układu RAA: 1) kluczową rolę w powstawaniu angiotensyny II pełni enzym konwertujący angiotensynę I (ACE- angiotensin converting enzyme), przekształcający dekapeptyd angiotensynę I w oktapeptyd angiotensynę II, 2) angiotensyna II działa za pośrednictwem swojego receptora AT1 (angiotensin II type 1 receptor), którego ekspresję udokumentowano nie tylko w miocardium, ale też w naczyniach krwionośnych (54, 55, 58)

Ostatnie lata obfitują w publikacje analizujące potencjalne związki przyczynowo-skutkowe polimorfizmu genów kodujących poszczególne składowe układu RAA: reniny,

angiotensynogenu, enzymu konwertującego angiotensynę I oraz AT1R z predyspozycją do rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego (47,48,51,54,59,60).

Przedmiotem wielu badań w przeciągu ostatnich kilku lat był polimorfizm genu ACE, który jest zlokalizowany na 17 chromosomie, zawiera 26 egzonów i 25 intronów o łącznej długości 21 k. (61,62). Szczególnie interesujący okazał się zlokalizowany w obrębie intronu 16 polimorfizm typu insercja/delecja (I/D), polegający na obecności (I) lub braku (D) sekwencji repetytywnej alu o długości 287 pz (63).

Udokumentowany jest bezpośredni związek pomiędzy polimorfizmem I/D a stężeniem ACE w osoczu i tkankach (64). Homozygoty DD charakteryzują się najwyższym stężeniem ACE w surowicy, homozygoty II najniższym, zaś u heterozygot ID występuje pośrednie stężenie ACE, co stanowi dowód na kodominujący efekt polimorfizmu. Mimo, że nie jest jasny mechanizm powiązania polimorfizmu I/D ze stężeniem ACE w osoczu, to ocenia się, że ok. 47% całkowitej zmienności stężenia ACE jest związane z w/w polimorfizmem (65).

W pierwszej połowie lat 90-tych dominowały w literaturze fachowej doniesienia o potencjalnie większym ryzyku wystąpienia choroby wieńcowej lub częstszym występowaniu zawału mięśnia sercowego w związku z nosicielstwem genotypu DD ACE (47,48,52,54,59,66,67). Badania te oparto jednak na stosunkowo małych liczebnie grupach pacjentów. Późniejsze metaanalizy oraz badania prospektywne liczniejszych populacji nie potwierdziły takiego związku (68,69, 70, 71).

Stosunkowo wiele publikacji poświęcono w ostatnim czasie badaniom innego polimorfizmu genu odpowiedzialnego za kodowanie innego istotnego elementu układu RAA: receptora AT1. Gen zlokalizowany na chromosomie trzecim ma wiele polimorfizmów, których istota sprowadza się do zamiany pojedynczej zasady w DNA (72).

Opisano tego rodzaju zamianę w pozycji: 9, 16, 87, 133, 186, 573, 1063, 1166, 1517 i 1878, lecz tylko część z nich związana jest ze zmianą sekwencji aminokwasów w białku receptora (48,59). Szczególnie interesujący wydaje się polimorfizm polegający na zamianie adeniny na cytozynę w pozycji 1166 (A1166C), zlokalizowany w pobliżu niekodującego końca 3' genu. Opisano istnienie trzech rodzajów genotypów: homozygot AA i CC oraz heterozygoty AC. W piśmiennictwie funkcjonują sprzeczne dane na temat potencjalnego związku allela C polimorfizmu A11666C AT1R z zaburzeniami w regulacji gęstości receptora w dół w warunkach wysokiego stężenia angiotensyny II (down regulation), z wysokością ciśnienia tętniczego czy też z masą i rodzajem przebudowy lewej komory po zawale mięśnia sercowego (73).

W świetle powyższych danych szczególnie interesujące wydaje się zbadanie roli wzajemnej interakcji między genami AT1i ACE w patogenezie chorób sercowo-naczyniowych. W literaturze dostępne są nieliczne dowody na związek współwystępowania genotypu DD ACE z allelem C AT1R ze statystycznie częstszym zawałem mięśnia sercowego (74). Na uwagę zasługuje również analiza interakcji gen - gen w kontekście wzrostu ryzyka groźnych komorowych zaburzeń rytmu u pacjentów posiadających równocześnie allel D ACE oraz allel C1166 (75).

Istnieją liczne doniesienia sugerujące związek między genotypem DD i towarzyszącej mu wyższej aktywności enzymu ACE a ryzykiem kardiomiopatii przerostowej, choroby wieńcowej, zawału serca, nawrotu zwężenia po zabiegach angioplastyki wieńcowej, i rozstrzeniowej, nagłego zgonu sercowego, rodzinnego występowania chorób układu sercowo- naczyniowego oraz nadciśnienia tętniczego i niektórych jego powikłań (47,48,51,54,58,66,67).

2.5. Polimorfizm *PIAIA2* genu glikoproteiny płytkowej *GPIIIa*

Znajomość patomechanizmów chorób układu sercowo- naczyniowego, szczególnie tych związanych z zakrzepicą (ostra faza zawału mięśnia sercowego, udar mózgu, zakrzepica żylna) pozwala na precyzyjne określenie roli płytek krwi w etiologii tych schorzeń. Praktyczną konsekwencją tej wiedzy jest stosowanie leków przeciwplatekcyjnych jako standardowego postępowania terapeutycznego i profilaktycznego w wielu sytuacjach klinicznych, skutkujące udokumentowanym badaniem klinicznymi zmniejszeniem śmiertelności chorych z np. ostrymi zespołami wieńcowymi. Brak na razie co prawda dowodów klinicznych na antymiażdżycowe działanie leków przeciwplatekcyjnych, ale istnieją pewne przesłanki z wyników badań eksperymentalnych sugerujące taką możliwość. W małopłytkowości dochodzi do zahamowania jednego z istotnych elementów patogenezy miażdżycy, mianowicie migracji proliferujących miocytów z błony środkowej do wewnętrznej. Wiemy również, że w czasie wykonywania angioplastyki w warunkach eksperymentalnych dochodzi do adhezji i degranulacji płytek krwi z uwolnieniem licznych substancji wzrostowych. Rozumienie istotnej roli glikoprotein błony komórkowej płytek krwi w procesach adhezji i agregacji spowodowało wzrost zainteresowania badaczy podłożem genetycznym polimorfizmów tychże glikoprotein. Jednym z częściej badanych jest polimorfizm glikoproteiny IIIa określanej mianem *PIA* lub *Zw*. Opisano dwie odmiany polimorficzne *PIA1* oraz *PIA2*, zawierające w

pozycji 33 odpowiednio: leucynę lub prolinę, co jest wynikiem zastąpienia tymidyny przez cytozynę w lokalizacji 1565 drugiego aksonu genu kodującego glikoproteinę IIIa.

W piśmiennictwie funkcjonuje wiele sprzecznych doniesień na temat ewentualnej roli zmienności polimorfizmu P1A GPIIIA w patogenezie chorób ukł. sercowo-naczyniowego. Uzyskano interesujące wyniki sugerujące związek występowania allelu P1A2 z częstszym występowaniem ostrych zespołów wieńcowych (Weiss i wsp.), częstszym występowaniem restenozy po zabiegach PTCA (Kastrati i wsp.) oraz ze stopniem zaawansowania miażdżycy (Carter i wsp.). Związek ten był szczególnie wyraźnie widoczny u pacjentów poniżej 60- tego roku życia. Sugeruje się również ew. związek w/w polimorfizmu z wieńcowym wywiadem rodzinnym (76)

Z drugiej zaś strony w badaniach Ridkera i wsp. nie stwierdzono istotnego związku polimorfizmu P1A1/P1A2 z zawałem mięśnia sercowego, udarem mózgu czy zakrzepicą żylną. Podobnie badanie ARIC nie wykazało związku polimorfizmu P1A GP IIIa ze wzrostem ryzyka wystąpienia choroby wieńcowej w 6- letniej obserwacji. Podobnie w badaniach Hermanna i wsp. oraz Gardeman i wsp. nie obserwowano związku w/w polimorfizmu z przebyłym zawałem mięśnia sercowego.

2.6. Polimorfizm T2238C genu przedsionkowego peptydu natriuretycznego (*Scal A2/A1 ANP*)

Od początku lat osiemdziesiątych XX-go wieku wiemy o silnych natriuretycznych i diuretycznych właściwościach przedsionkowego peptydu natriuretycznego (ANP). Ta wyekstrahowana z ziarnistości w przedsionkach serca substancja należy obok mózgowego peptydu natriuretycznego (BNP) oraz peptydu natriuretycznego typu C (CNP) do grupy wazoaktywnych czynników zwanych peptydami diuretycznymi. 28-aminokwasowy ANP powstały ze 126 – aminokwasowego prekursora w fizjologicznych warunkach wytwarzany jest jedynie w przedsionkach serca i uwalniany pod wpływem napięcia ścian przedsionków (wzrost obciążenia wstępnego) serca. ANP, podobnie jak inne peptydy natriuretyczne działa przeciwstawnie do układu renina-angiotensyna-aldosteron, układu adrenergicznego, wazopresyny i endoteliny. Poprzez wzrost diurezy i wydalania sodu ANP zmniejsza objętość wewnątrznaczyniową, zaś poprzez bezpośrednie działanie naczyniorozszerzające obniża powrót żylny. Skutkuje to efektem w postaci zmniejszenia obciążenia wstępnego serca (preload).

Ostatnie lata przyniosły wzrastającą liczbę doniesień opisujących rolę peptydów natriuretycznych, w tym ANP w patogenezie chorób ukł. krążenia, a szczególnie nadciśnienia tętniczego i niewydolności serca. W warunkach przeciążenia wynikających z niewydolności serca peptydy natriuretyczne są wydzielane nie tylko w przedsionkach, ale również w komorach, przy czym przy krótszym czasie przeciążenia (kilka godzin) aktywacji ulega BNP, zaś w przeciążeniu długoterminowym (dni) aktywowane jest wydzielanie ANP. Zarówno w sytuacji przerostu lewej komory, jak i dekompensacji niewydolności serca obserwuje się w warunkach eksperymentalnych mRNA genu ANP.

W zakresie patogenezy nadciśnienia tętniczego wiemy z badań na transgenicznych zwierzętach, że genetycznie uwarunkowany spadek produkcji ANP prowadzi do rozwoju sodozależnego nadciśnienia tętniczego, przy czym w sytuacji zupełnego braku możliwości ANP nadciśnienie tętnicze rozwijało się u zwierząt odżywianych dietą zawierającą zwykłą lub podwyższoną ilość sodu, zaś przy genetycznie ograniczonych możliwościach produkcji ANP nadciśnienie rozwijało się w warunkach większej podaży sodu w diecie (77). Badania polimorficznych wariantów genu kodującego ANP w niektórych populacjach ludzkich również sugerowały potencjalny związek z rozwojem nadciśnienia tętniczego sodowrażliwego. Wg Rutlege i wsp. allel A1 występuje znamienne częściej u Afroamerykanów z nadciśnieniem tętniczym. (78) Wiele doniesień wskazuje na istotną rolę ANP w mechanizmach regulacji przepływu w naczyniach wieńcowych oraz patomechanizmie miażdżycy. ANP łączy działanie naczyniorozszerzające z aktywnością antymitotyczną, udokumentowaną w stosunku do wielu typów komórek, włączywszy komórki mięśniówki gładkiej oraz komórek endotelium (10), co sugeruje jego znaczenie w procesach patologicznej przebudowy i miażdżycy tętnic (79,80,81,82,83,84,85,86,87, 88, 89, 90,91). Istnieją dowody na antagonistyczne działanie ANP w stosunku do zależnego od trombiny transportu płynów i albumin przez endothelium ściany naczynia oraz na hamowanie stymulowanego trombiną uwalniania endoteliny z komórek endotelium naczyniowego (92). Dobrze udokumentowane jest działanie naczyniorozszerzające ANP zarówno w stosunku do naczyń *in vitro*, jak również w stosunku do podwierszowych naczyń wieńcowych *in vivo*, co oznacza zdolności regulowania przepływu wieńcowego (93,94). Indukowana przez ANP relaksacja mięśniówki gładkiej naczyń jest zaburzona w naczyniach dotkniętych miażdżycą, w mechanizmie atenuacji cyklicznego GMP (93). Z badań na królikach karmionych dietą bogatą w cholesterol i leczonych inhibitorami neutralendopeptydaz, enzymem inaktywującym naczynioaktywne działanie peptydów

natriuretycznych, wynikają przesłanki sugerujące potencjalne antymiażdżycowe działanie tych ostatnich (95).

Wzrost poziomu ANP (oraz BNP) obserwuje się również podczas trwania ostrych zespołów wieńcowych; niestabilnej dusznicy bolesnej i zawału mięśnia sercowego jak również podczas przemijającego niedokrwienia w trakcie zabiegów przezskórnej angioplastyki wieńcowej.

Jednym z częściej opisywanych wariantów jest polimorfizm Scal *A2/A1*, dotyczący rejonu będącego kodonem stop genu kodującego ANP. Zamiana tyminy na cytozynę w pozycji 2238 genu ANP w rejonie stop kodonu (allel A1) prowadzi do utraty miejsca restrykcyjnego dla Scal i utratę właściwości stop kodonu, co z kolei skutkuje wydłużeniem ANP o dwie dodatkowe argininy (96,97,98).

III. CEL BADAŃ I GŁÓWNE HIPOTEZY BADAWCZE

3.1. Cel badań

Celem prowadzonych badań w kohorcie pracowników Portu Gdańskiego była ocena związku następujących wariantów polimorficznych:

1. insercyjno/delecyjnego genu enzymu konwertującego angiotensynę I (*I/D ACE*),
2. *A1166C* genu receptora dla angiotensyny II typu 1 (*A1166C AT1R*),
3. Leu33/Pro glikoproteiny płytkowej IIIa (*PLA1/PLA2 GPIIIa*),
4. oraz T2238C genu przedsionkowego czynnika natriuretycznego (*ScaI ANP*)

z:

1. częstością zgonów, ze szczególnym uwzględnieniem zgonów sercowo- naczyniowych
2. z przebyłym zawałem mięśnia sercowego,
3. z chorobą wieńcową.

3.2. Główne hipotezy badawcze:

Występowanie wybranych alleli badanych polimorfizmów zwiększa ryzyko:

1. zgonu, ze szczególnym uwzględnieniem zgonu sercowo- naczyniowego
2. zawału mięśnia sercowego,
3. zachorowania na chorobę wieńcową

IV. MATERIAŁ I METODY

4.1. Badana grupa

Badania zostały przeprowadzone w grupie 691 kobiet i mężczyzn, pracowników i emerytów Portu Gdańskiego w wieku od 22 do 73 lat (średni wiek 44 ± 9 lat), poddanych rutynowym badaniom okresowym w poradni zakładowej. Wszyscy pacjenci, włączeni do badania, wyrazili pisemną zgodę po zapoznaniu się z projektem doktoratu zaaprobowanym przez Terenową Komisję Etyki Badań Naukowych przy AM w Gdańsku.

4.2. Dane kliniczne

Dane antropometryczne i kliniczne uzyskiwano w czasie rutynowych badań okresowych w poradni zakładowej Portu Gdańskiego. Kryterium wykluczającym z badania była rozpoznana choroba wieńcowa (dodatnia próba wysiłkowa, dobutaminowa lub scyntygrafia wysiłkowa, dodatni wynik badania koronarograficznego, przebyty zawał mięśnia sercowego, zabieg przezskórnej rewaskularyzacji naczyń wieńcowych lub zabieg przeszłowania aortalno- wieńcowego), udar mózgu, przemijające niedokrwienie mózgu lub inne schorzenie miażdżycopodobne. Przebyty zawał mięśnia sercowego rozpoznawano na podstawie standardowych kryteriów: typowych objawów klinicznych, wzrostu enzymów wskaźnikowych martwicy mięśnia sercowego oraz typowych zmian elektrokardiograficznych. Wszystkie badane osoby zważono, zmierzono wzrost, obwód talii i bioder, z których wyliczono wskaźnik masy ciała (BMI) i stosunek obwodu talii do bioder (WHR). Ciśnienie tętnicze mierzono dwukrotnie manometrem rtęciowym w pozycji siedzącej. Nadciśnienie tętnicze rozpoznawano wówczas, gdy dwukrotny pomiar wykazywał wartości ≥ 140 mmHg dla ciśnienia skurczowego i/lub ≥ 90 mmHg dla ciśnienia rozkurczowego oraz w przypadku wcześniej rozpoznanego nadciśnienia tętniczego i/lub przyjmowania przez chorego leków hipotensyjnych. Podobnie cukrzycę rozpoznawano na podstawie standardowych kryteriów WHO (99) oraz na podstawie wywiadu i wdrożonego leczenia hipoglikemicznego. Jako palacza tytoniu określano osobę, która paliła w momencie włączenia do badania lub zaprzestała palenia mniej niż 10 lat wcześniej. Profil lipidowy (cholesterol całkowity, cholesterol frakcji HDL, trójglicerydy) i poziom glikemii na czczo oznaczano standardowymi metodami analityki medycznej w Laboratorium Analityki Medycznej przy poradni zakładowej Portu Gdańskiego. Poziom cholesterolu

LDL wyliczone z równania Friedewalda. Występowanie choroby wieńcowej u krewnego pierwszego stopnia (rodzice, rodzeństwo) uznawano za rodzinne obciążenie chorobą wieńcową. Wyjściowa charakterystyka kliniczna badanej grupy, opracowana na podstawie badania w okresie 1997-1998 została przedstawiona w tab.5.

Tab.5 Charakterystyka badanej grupy

Wiek (lata)	44 \pm 9
Mężczyźni (%)	81(563)
Kobiety(%)	19(128)
Wzrost (cm)	172 \pm 8
Waga (kg)	79 \pm 14
Wskaźnik masy ciała (kg/m ²)	26 \pm 5
Obwód talii (cm)	95 \pm 13
Obwód bioder (cm)	102 \pm 8
WHR (waist to hip ratio)	0,92 \pm 0,09
Cholesterol całkowity (mg %)	229 \pm 48
Cholesterol LDL (mg %)	149 \pm 44
Cholesterol HDL (mg %)	49 \pm 17
Trójglicerydy (mg%)	153 \pm 143
Glukoza (mg%)	87 \pm 19
Ciśnienie skurczowe (mmHg)	133 \pm 20
Ciśnienie rozkurczowe (mmHg)_	84 \pm 12
Nadciśnienie tętnicze (%)	48(300)
Cukrzyca (%)	3 (17)
Tytoń (%)	52 (353)
Wieńcowy wywiad rodzinny (%)	30 (164)

4.3. Izolacja DNA i badania molekularne

Badania molekularne zostały wykonane w Katedrze i Zakładzie Biologii i Genetyki AMG. Materiał wykorzystanym do badania była krew obwodowa pobrana do probówki zawierającej etylenodwuaminoczeroctan (EDTA). Izolacji genomowego DNA z krwi obwodowej dokonano metodą enzymatyczną przy pomocy komercyjnego zestawu *Blood DNA Prep Plus* (A&A Biotechnology Gdańsk).

4.3.1 Polimorfizm *I/D* genu *ACE*

Badanie polimorfizmu *I/D* genu *ACE* wykonano za pomocą łańcuchowej reakcji polimerazy DNA (*PCR- polymerase chain reaction*) opisaną wcześniej przez Rigata i wsp. (100). W zależności od obecności w amplifikowanym rejonie genu fragmentu 287 pz na podstawie obrazu elektroforetycznego, uzyskanych produktów PCR, na 2% żelach agarozowych barwionych bromkiem etydyny identyfikowano w świetle UV allele *I* i *D*. Ze względu na opisywaną preferencję do amplifikacji krótszych fragmentów (allel *D*) i związaną z tym możliwością błędnego określenia heterozygoty *ID* jako homozygoty *DD*, wszystkie wyniki *DD* potwierdzano reakcją PCR z parą starterów specyficzną dla allelu *I*, zgodnie z metoda opisaną przez Linpaintnera i wsp. (101).

4.3.2 Polimorfizm *A1166C* genu receptora *ATI*

Badanie polimorfizmu *A1166C* genu receptora *ATI* wykonano przy pomocy techniki długości fragmentów restrykcyjnych (RLFP- *restriction fragment length polymorphism*) w oparciu o metodę opisaną wcześniej przez Katsuya i wsp. (102). Przy pomocy reakcji PCR wykonano amplifikację regionu zawierającego miejsce *A1166C*. Zastosowano zmodyfikowane startery o sekwencjach:

5'-gga tgt att gat tca act agg cat c-3'

5'-aaa gtc ggt tca gtc cac ata atg c-3'

Długość pierwotnego produktu PCR wynosiła 440 pz, zaś po trawieniu enzymem restrykcyjnym DdeI (Promega, Madison, Stany Zjednoczone), według procedury zalecanej przez producenta, w zależności od genotypu, uzyskiwano następujące fragmenty:

Homozygota *CC*- 240, 140, 60 pz

Heterozygota *AC*- 240, 200, 140, 60 pz

Homozygota *AA*- 240, 200 pz

Powyższe fragmenty identyfikowano przy pomocy elektroforezy na 3% żelach agarozowych barwionych bromkiem etydyny i wizualizacji w świetle UV.

4.3.3 Polimorfizm *PLA1/PLA2* genu glikoproteiny płytkowej *GPIIIa*

Badanie polimorfizmu *PLA1/PLA2* genu glikoproteiny płytkowej *GPIIIa* zostało wykonane przy pomocy techniki długości fragmentów restrykcyjnych (RLFP- *restriction fragment length polymorphism*) wykorzystując metodę opisaną wcześniej przez Weiss i wsp. (103). Amplifikację regionu zawierającego miejsce T1565C wykonano przy pomocy reakcji PCR. Stosowano zmodyfikowane startery o sekwencjach:

5'-ctg cag gag gta gag agt cgc cat ag-3'

5'-gcc gga gtg caa tcc tcc ggg gac tga ctt g-3'

Długość pierwotnego produktu PCR wynosiła 253 pz, zaś po trawieniu enzymem restrykcyjnym NciI (Promega, Madison, Stany Zjednoczone), według procedury zalecanej przez producenta, w zależności od genotypu, uzyskiwano następujące fragmenty:

Homozygota *PLA1A1*- 19, 234 pz

Heterozygota *PLA1A2*- 19, 77, 157, 234 pz

Homozygota *PLA2A2*- 19, 77, 157 pz

Powyższe fragmenty identyfikowano wykorzystując elektroforezę na 3% żelach agarozowych barwionych bromkiem etydyny i wizualizacji w świetle UV.

4.3.4. Polimorfizm *Scal* genu przedsionkowego peptydu natriuretycznego (*Scal ANP*)

Badanie polimorfizmu *Scal A2/A1 ANP* zostało wykonane przy użyciu techniki długości fragmentów restrykcyjnych (RLFP- *restriction fragment length polymorphism*) zgodnie z metodą opisaną wcześniej przez Ramasawmy'a i wsp. (104). Amplifikację regionu zawierającego miejsce T2238C uzyskano poprzez zastosowanie reakcji PCR. Stosowano zmodyfikowane startery o sekwencjach:

5'-ggg ggg aag cag gtg gtc agt act caa gtt cag agg atg ggc-3'

5'-cac aac tcc atg gca aca aga tga cac aaa tgc-3'

Długość pierwotnego produktu PCR wynosiła 234 pz, zaś po trawieniu enzymem restrykcyjnym *Scal* (Promega, Madison, Stany Zjednoczone), według procedury zalecanej przez producenta, w zależności od genotypu, uzyskiwano następujące fragmenty:

Homozygota *A1A1*- 21, 213 pz

Heterozygota *A1A2*- 21, 96, 117, 213 pz

Homozygota *A2A2*- 21, 96, 117 pz

Identyfikacji powyższych fragmentów dokonywano przy pomocy elektroforezy na 3% żelach agarozowych barwionych bromkiem etydyny i wizualizacji w świetle UV.

Analiza i archiwizacja wszystkich obrazów żeli agarozowych wykonane były przy pomocy systemu komputerowego GelDoc 2000 i oprogramowania Quantity One (BIORAD, Stany Zjednoczone).

4.4. Metody analizy statystycznej

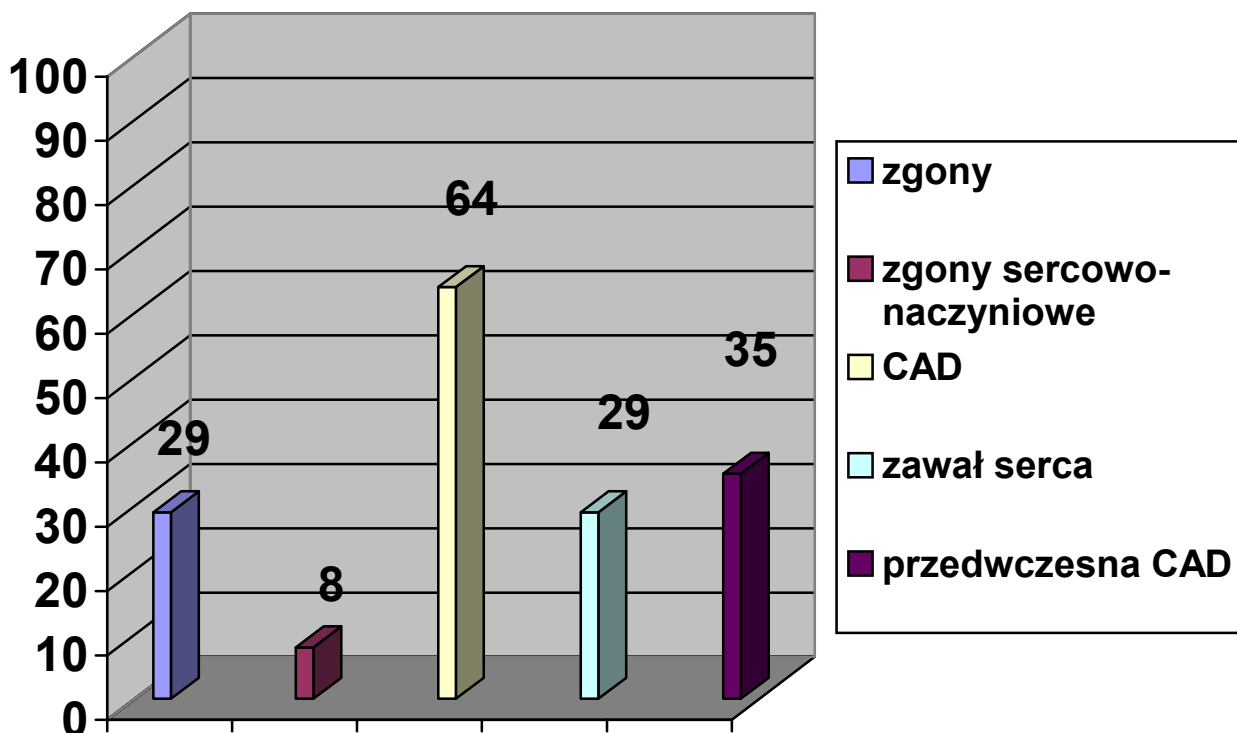
Wszystkie wyniki podano jako średnie arytmetyczne \pm SD lub jako proporcje. Stosując test Shapiro-Wilka oceniano rozkład zmiennych ciągłych pod kątem jego zgodności z rozkładem normalnym. Znamienność statystyczną różnic między średnimi zmiennych o rozkładzie normalnym oceniano za pomocą testu *t* Studenta, a średnimi zmiennych o rozkładzie różnym od normalnego testem Mana Whitneya U. W przypadku porównywania więcej niż dwóch średnich posługiwano się testem wariancji ANOVA/MANOVA i testami post hoc. Zmienne katagoryczne oceniano za pomocą testu χ^2 .

Test χ^2 został użyty do analizy zgodności uzyskanych rozkładów genotypów z równowagą Hardy-Weinberg'a oraz dla porównania rozkładów genotypów między poszczególnymi podgrupami (zgon/ przeżycie, z przebyłym zawałem/ bez przebytego zawału, choroba wieńcowa/ bez choroby wieńcowej, pozytywny rodzinny wywiad rodzinny w kierunku chorób układu sercowo- naczyniowego/ negatywny rodzinny wywiad rodzinny w kierunku chorób układu sercowo- naczyniowego). Związek poszczególnych genotypów ze zgonem, zgonem z przyczyn sercowo- naczyniowych, przebyłym zawałem mięśnia sercowego, rozpoznaną chorobą wieńcową, pozytywnym wieńcowym wywiadem rodzinnym oceniany był przy pomocy regresji logistycznej (poziom istotności przynajmniej $p=0.05$). Jako miarę ryzyka związanego z danym genotypem kalkulowano ilorazy szans (OR- *odds ratio*) z 95% przedziałami ufności (95% CI- *confidence intervals*) bez i z uwzględnieniem innych istotnych czynników ryzyka (*crude* i *adjusted* OR).

Obliczenia statystyczne wykonano za pomocą programu STATISTICA for Windows, wersja 7 (StatSoft, Stany Zjednoczone). Za statystycznie znamienne przyjęto wartość $p<0.05$.

V. WYNIKI

W grupie 691 w czasie 8 letniej obserwacji odnotowano 29 zgonów, w tym 8 zgonów z powodów sercowo- naczyniowych (nagła śmierć sercowa, zawał mięśnia sercowego, niewydolność serca, udar mózgu). Ponadto u 64 osób w okresie obserwacji odnotowano rozpoznanie choroby niedokrwiennej serca (dodatnia próba wysiłkowa, przebyty zabieg przeszłowania aortalno – wieńcowego (CABG) lub przezskórnej angioplastyki wieńcowej (PTCA)), w tym 35 osób spełniało kryteria przedwczesnej choroby wieńcowej, zaś u 29 odnotowano przebyty zawał mięśnia sercowego. Dodatni wywiad rodzinny w zakresie chorób układu sercowo- naczyniowego stwierdzono u 164 osób.



Ryc. 2 Ilość zdarzeń sercowo- naczyniowych w badanej grupie w okresie obserwacji.

5.1. Związek podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego ze zgonami

Tab.6. Rozkład podstawowych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego w grupie pacjentów zmarłych w okresie obserwacji oraz w grupie pacjentów żyjących w okresie obserwacji (stan na 1.11.2006).

Czynnik ryzyka	Zgon	Bez zgonu	p
Wiek (lata)	51±8	44±9	<0,0001*
BMI (kg/m ²)	28±5	27±5	0,36
Cholesterol całkowity* (mg%)	240±52	228±48	0,16
Cholesterol LDL* (mg%)	165±47	148±44	0,054
Cholesterol HDL (mg%)	49±16	49±17	0,69
Trójglicerydy (mg%)	129±63	154±145	0,59
Glukoza* (mg%)	93±23	87±19	0,08
SBP (mm Hg)	139±21	132±20	0,09
DBP (mm Hg)	89±12	84±12	0,051
WHR	0,93±0,06	0,92±0,09	0,39
Nadciśnienie tętnicze (%)	70,37	47,14	0,02*
Cukrzyca (%)	7,41	2,27	0,09
Tytoń (%)	59,26	51,22	0,41
Wieńcowy wywiad rodzinny(%)	0	30,04	0,7
SCORE	6,78±9,53	3,9±4,07	0,14

*- różnica istotna statystycznie

5.2. Związek podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego ze zgonami z przyczyn sercowo-naczyniowych

Tab.7. Rozkład podstawowych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego w grupie pacjentów zmarłych z przyczyn sercowo-naczyniowych (nagła śmierć sercowa, zawał ze skutkiem śmiertelnym, udar mózgu, dekompenacja niewydolności serca) w okresie obserwacji oraz w grupie pacjentów żyjących w okresie obserwacji (stan na 1.11.2006).

Czynnik ryzyka	Zgon z przyczyn sercowo-naczyniowych	Bez zgonu	p
Wiek (lata)	54 \pm 4	44 \pm 9	0,0007*
BMI (kg/m ²)	26 \pm 4	26 \pm 5	0,90
Cholesterol całkowity* (mg%)	237 \pm 33	228 \pm 49	0,46
Cholesterol LDL* (mg%)	155 \pm 38	149 \pm 44	0,64
Cholesterol HDL (mg%)	55 \pm 11	49 \pm 17	0,20
Trójglicerydy (mg%)	141 \pm 64	153 \pm 143	0,71
Glukoza* (mg%)	96 \pm 11	87 \pm 19	0,01*
SBP (mm Hg)	154 \pm 23	132 \pm 28	0,01*
DBP (mm Hg)	95 \pm 12	84 \pm 12	0,02*
WHR	0,93 \pm 0,06	0,92 \pm 0,09	0,66
Nadciśnienie tętnicze (%)	87,5	47,63	0,02*
Cukrzyca (%)	0	2,5	0,42
Tytoń (%)	57,14	51,47	0,93
Wieńcowy wywiad rodzinny(%)	0	30,04	0,66
SCORE	13,6 \pm 14,8	3,9 \pm 4,1	0,03*

*- różnica istotna statystycznie

5.3. Związek podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego z przebyłym zawałem mięśnia sercowego

Tab.8. Rozkład podstawowych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego w grupie pacjentów z przebyłym zawałem mięśnia sercowego nie zakończonym zgonem i bez przebytego zawału mięśnia sercowego (stan na 1.11.2006).

Czynnik ryzyka	Zawał serca	Bez zawału serca	p
Wiek (lata)	51 \pm 7	44 \pm 8	<0,0001*
BMI (kg/m ²)	26 \pm 6	27 \pm 5	0,87
Cholesterol całkowity* (mg%)	245 \pm 57	227 \pm 47	0,13
Cholesterol LDL* (mg%)	166 \pm 58	146 \pm 41	0,14
Cholesterol HDL (mg%)	49 \pm 21	49 \pm 17	0,84
Trójglicerydy (mg%)	161 \pm 187	158 \pm 149	0,61
Glukoza* (mg%)	88 \pm 14	87 \pm 20	0,69
SBP (mm Hg)	142 \pm 22	132 \pm 20	<0,02*
DBP (mm Hg)	87 \pm 13	84 \pm 12	0,17
WHR	0,95 \pm 0,07	0,92 \pm 0,1	<0,04*
Nadciśnienie tętnicze (%)	70,37	47,14	<0,02*
Cukrzyca (%)	3,45	2,63	0,74
Tytoń (%)	51,51	48,28	0,73
Wieńcowy wywiad rodzinny(%)	50	29,14	<0,04*
SCORE	5,2 \pm 8,2	3,9 \pm 3,8	0,74

*- różnica istotna statystycznie

U pacjentów z przebyłym zawałem mięśnia sercowego stwierdzono znamienne wyższe ciśnienie skurczowe, współczynnik WHR niż u osób bez przebytego zawału (tab.8). Chorzy z przebyłym zawałem byli znamienne starsi, częściej mieli nadciśnienie tętnicze oraz znamienne częściej mieli dodatni wywiad rodzinny.

5.4. Związek podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego z rozpoznaną chorobą wieńcową

Tab.9. Rozkład podstawowych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego w grupie pacjentów z rozpoznaną w okresie obserwacji chorobą wieńcową oraz pacjentów, którzy przeżyli okres obserwacji bez rozpoznanej choroby wieńcowej (stan na 1.11.2006).

Czynnik ryzyka	Choroba wieńcowa	Bez choroby wieńcowej	p
Wiek (lata)	50±6	44±8	<0,00001*
BMI (kg/m ²)	28±6	27±5	<0,01*
Cholesterol całkowity* (mg%)	244±49	226±47	0.005*
Cholesterol LDL* (mg%)	157±54	147±41	0,27
Cholesterol HDL (mg%)	51±25	49±16	0,9
Trójglicerydy (mg%)	184±171	154±147	0,07
Glukoza* (mg%)	92±27	87±19	0,16
SBP (mm Hg)	143±26	131±19	0,0005*
DBP (mm Hg)	89±14	83±11	0,001*
WHR	0,94±0,06	0,92±0,1	<0,05*
Nadciśnienie tętnicze (%)	64,91	47,15	<0,01*
Cukrzyca (%)	6,45	2,37	0,15
Tytoń (%)	44,44	52,88	0,2
Wieńcowy wywiad rodzinny(%)	53,57	27,29	<0,0001*
SCORE	5,1±6,5	3,8±3,9	0,12

*- różnica istotna statystycznie

Osoby z rozpoznaną chorobą wieńcową były istotnie starsze oraz miały znamienne wyższy poziom cholesterolu całkowitego, ciśnienia skurczowego i rozkurczowego oraz wyższe wskaźniki BMI i WHR w porównaniu z pacjentami bez rozpoznanej choroby wieńcowej (tab.9). Znamienne częściej miały również nadciśnienie tętnicze oraz dodatni wywiad rodzinny.

5.5 Związek podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego ze zgonem lub przebyłym zawałem mięśnia sercowego.

Tab.10. Rozkład podstawowych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego w grupie pacjentów, którzy zmarli lub przebyli zawał mięśnia sercowego w czasie obserwacji oraz pacjentów, którzy przeżyli okres obserwacji i nie przebyli zawału mięśnia sercowego (stan na 1.11.2006).

Czynnik ryzyka	Zgon lub zawał serca	Bez zgonu i bez zawału serca	p
Wiek (lata)	51±7	44±8	<0,000001*
BMI (kg/m ²)	27±6	27±5	0,6
Cholesterol całkowity* (mg%)	245±54	227±47	<0,02*
Cholesterol LDL* (mg%)	167±54	146±41	0,012*
Cholesterol HDL (mg%)	49±18	49±17	0,8
Trójglicerydy (mg%)	148±147	158±149	0,6
Glukoza* (mg%)	90±19	87±21	0,2
SBP (mm Hg)	140±23	132±20	<0,01*
DBP (mm Hg)	87±12	84±12	0,06
WHR	0,94±0,06	0,92±0,1	0,09
Nadciśnienie tętnicze (%)	67,35	47,57	<0,01*
Cukrzyca (%)	4,08	2,64	0,9
Tytoń (%)	53,06	51,89	0,9
Wieńcowy wywiad rodzinny(%)	47,83	29,20	0,056
SCORE	5,4±7,5	3,9±3,8	0,23

*- różnica istotna statystycznie

Osoby z przebyłym zawałem mięśnia sercowego lub zmarłe w trakcie były istotnie starsze oraz miały znamienne wyższy poziom cholesterolu całkowitego, LDL oraz ciśnienia skurczowego w porównaniu z pacjentami bez przebytego zawału lub zgonu (tab.10).

5.6. Związek podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego ze zgonem z przyczyn sercowo-naczyniowych lub przebytym zawałem mięśnia sercowego.

Tab.11. Rozkład podstawowych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego w grupie pacjentów, którzy zmarli lub przebyli zawał mięśnia sercowego w czasie obserwacji oraz pacjentów, którzy przeżyli okres obserwacji i nie przebyli zawału mięśnia sercowego (stan na 1.11.2006).

Czynnik ryzyka	Zgon sercowo-naczyniowy lub zawał serca	Bez zgonu sercowo-naczyniowego i bez zawału serca	p
Wiek (lata)	51±7	44±8	0,000005*
BMI (kg/m ²)	26±6	27±5	0,9
Cholesterol całkowity* (mg%)	247±52	227±47	0,04*
Cholesterol LDL* (mg%)	166±56	147±42	0,1
Cholesterol HDL (mg%)	51±19	49±17	0,6
Trójglicerydy (mg%)	166±183	157±147	0,9
Glukoza* (mg%)	89±12	87±21	0,2
SBP (mm Hg)	145±24	132±20	0,003*
DBP (mm Hg)	88±13	84±12	0,07
WHR	0,94±0,07	0,92±0,1	0,1
Nadciśnienie tętnicze (%)	70,00	48,17	0,03*
Cukrzyca (%)	0	2,91	0,7
Tytoń (%)	48,28	52,19	0,7
Wieńcowy wywiad rodzinny(%)	47,83	29,20	0,056
SCORE	6,4±8,9	3,9±3,8	0.19

5.7. Związek podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo- naczyniowego ze zgonem, przebyłym zawałem mięśnia sercowego lub rozpoznaną chorobą wieńcową.

Tab.12. Rozkład podstawowych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego w grupie pacjentów, którzy zmarli lub przebyli zawał mięśnia sercowego lub u których rozpoznano w okresie obserwacji chorobę wieńcową oraz pacjentów, którzy przeżyli okres obserwacji, bez przebytego zawału i bez rozpoznanej choroby wieńcowej (stan na 1.11.2006).

Czynnik ryzyka	Zgon, zawał serca lub choroba wieńcowa	Bez zgonu, bez zawału serca i bez choroby wieńcowej	p
Wiek (lata)	50±7	43±8	<0,0000*
BMI (kg/m ²)	28±5	27±4	<0,01*
Cholesterol całkowity* (mg%)	245±49	226±47	<0,001*
Cholesterol LDL* (mg%)	160±53	146±41	<0,04*
Cholesterol HDL (mg%)	51±23	48±16	0,87
Trójglicerydy (mg%)	172±154	155±149	0,12
Glukoza* (mg%)	92±27	87±19	0,08
SBP (mm Hg)	141±25	131±19	<0,001*
DBP (mm Hg)	89±14	83±11	<0,002*
WHR	0,93±0,06	0,92±0,1	0,12
Nadciśnienie tętnicze (%)	64,86	46,55	0,0035*
Cukrzyca (%)	6,25	2,2	0,09
Tytoń (%)	48,15	52,82	0,4
Wieńcowy wywiad rodzinny(%)	52,73	27,44	0,0001*
SCORE	5,2±6,5	3,8±3,9	0.07

*- różnica istotna statystycznie

Osoby z przebyłym zawałem mięśnia sercowego lub zmarłe w trakcie obserwacji były istotnie starsze, częściej miały nadciśnienie tętnicze oraz miały znamienne wyższy poziom cholesterolu całkowitego, LDL oraz ciśnienia skurczowego i rozkurczowego w porównaniu z pacjentami bez zgonu, bez przebytego zawału i bez rozpoznanej choroby wieńcowej (tab.12). Znamienne częściej miały również dodatni wywiad rodzinny.

5.8. Związek podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego ze zgonem z przyczyn sercowo- naczyniowych, przebyłym zawałem mięśnia sercowego lub rozpoznaną chorobą wieńcową.

Tab.13. Rozkład podstawowych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego w grupie pacjentów, którzy zmarli z przyczyn sercowo- naczyniowych, przebyli zawał mięśnia sercowego lub u których rozpoznano w okresie obserwacji chorobę wieńcową oraz pacjentów, którzy przeżyli okres obserwacji, bez przebytego zawału i bez rozpoznanej choroby wieńcowej (stan na 1.11.2006).

Czynnik ryzyka	Poważne incydenty sercowo- naczyniowe	Bez poważnych incydentów sercowo- naczyniowych	p
Wiek (lata)	50±7	44±8	<0,00000*
BMI (kg/m ²)	28±6	27±5	<0,03*
Cholesterol całkowity* (mg%)	246±47	227±48	<0,003*
Cholesterol LDL* (mg%)	157±54	147±42	0,33
Cholesterol HDL (mg%)	52±25	48±16	0,69
Trójglicerydy (mg%)	187±171	154±146	<0,04*
Glukoza* (mg%)	92±27	87±19	0,07
SBP (mm Hg)	144±26	131±19	<0,001*
DBP (mm Hg)	90±14	83±11	<0,002*
WHR	0,93±0,1	0,92±0,1	0,19
Nadciśnienie tętnicze (%)	65,45	47,22	<0,02*
Cukrzyca (%)	4,92	2,51	0,5
Tytoń (%)	43,55	53,2	0,15
Wieńcowy wywiad rodzinny(%)	52,73	27,44	0,0001*
SCORE	5,6±7,1	3,8±3,9	0,06

5.9. Związek podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego z rozpoznaną przedwczesną (K<65, M<55r.ż.) chorobą wieńcową.

Tab.14. Rozkład podstawowych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego w grupie pacjentów z przedwczesną (K<65, M<55r.ż.) chorobą wieńcową rozpoznaną w czasie badania oraz bez przedwczesnej choroby wieńcowej (stan na 1.11.2006).

Czynnik ryzyka	Przedwczesna choroba wieńcowa	Bez przedwczesnej choroby wieńcowej	p
Wiek (lata)	44±9	45±5	0,3
BMI (kg/m ²)	27±6	27±5	0,19
Cholesterol całkowity* (mg%)	247±55	227±47	<0,05*
Cholesterol LDL* (mg%)	152±60	148±42	0,72
Cholesterol HDL (mg%)	51±30	49±16	0,42
Trójglicerydy (mg%)	225±217	153±144	0,015*
Głukoza* (mg%)	91±35	87±19	0,74
SBP (mm Hg)	143±29	132±19	<0,04*
DBP (mm Hg)	89±16	84±11	0,07
WHR	0,93±0,07	0,92±0,1	0,2
Nadciśnienie tętnicze (%)	58,06	48,43	0,3
Cukrzyca (%)	5,88	2,64	0,57
Tytoń (%)	57,14	51,33	0,5
Wieńcowy wywiad rodzinny(%)	65,63	27,68	0,00001*
SCORE	4,1±3,9	3,9±3,9	0,64

*- różnica istotna statystycznie

Osoby z przedwczesną (K<65, M<55r.ż.) chorobą wieńcową miały znamienne wyższy poziom cholesterolu całkowitego, trójglicerydów oraz ciśnienia skurczowego w porównaniu z pacjentami bez rozpoznanej przedwczesnej choroby wieńcowej (tab.14). Znamienne częściej miały też dodatni wywiad rodzinny.

5.10. Związek podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego z dodatnim wywiadem w kierunku chorób układu sercowo-naczyniowego wśród krewnych pierwszego stopnia

Tab.15. Rozkład podstawowych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego w grupie pacjentów z dodatnim wieńcowym wywiadem rodzinnym (przynajmniej jeden krewny pierwszego stopnia z chorobą wieńcową) i u chorych bez obciążenia rodzinnego (stan na 1.11.2006).

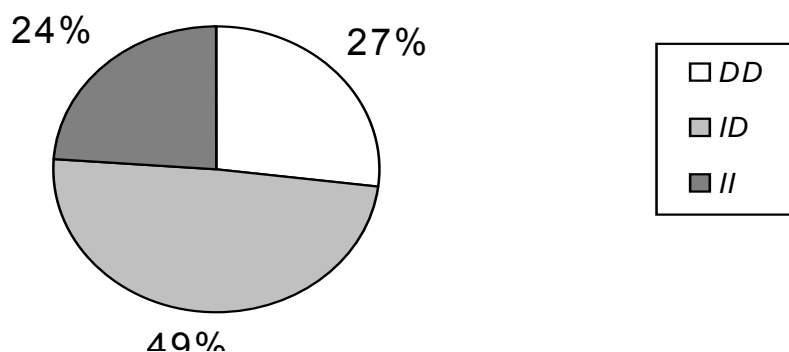
Czynnik ryzyka	dodatni wywiad rodzinny	Bez dodatniego wywiadu rodzinnego	p
Wiek (lata)	43±8	44±8	0,041*
BMI (kg/m ²)	27±5	27±4	0,7
Cholesterol całkowity* (mg%)	229±51	227±46	0,9
Cholesterol LDL* (mg%)	149±49	146±40	0,5
Cholesterol HDL (mg%)	49±18	49±17	0,9
Trójglicerydy (mg%)	159±149	159±155	0,5
Glukoza* (mg%)	87±22	87±20	0,96
SBP (mm Hg)	133±23	132±19	0,7
DBP (mm Hg)	84±13	84±11	0,9
WHR	0,92±0,08	0,92±0,1	0,9
Nadciśnienie tętnicze (%)	48,25	48,28	1,0(0,9961)
Cukrzyca (%)	2,45	2,61	0,92
Tytoń (%)	48,47	53,02	0,3
SCORE	3,3±3,5	4,1±3,9	<0.01*

*- różnica istotna statystycznie

Chorzy z pozytywnym wieńcowym wywiadem rodzinnym byli istotnie młodsi od pacjentów bez rodzinnego obciążenia chorobą wieńcową; 43±8 vs 44±8 lat, p= 0,041 (tab.15).

5.11. Polimorfizm *I/D* genu *ACE*

W badanej grupie 691 chorych stwierdzono następujący rozkład częstości genotypów polimorfizmu *I/D* *ACE*: *DD*-27%, *ID*-49% i *II*-24%, który pozostawał w zgodzie z równowagą Hardy-Weinberga. Poszczególne allele występowały z częstością: *D*- 0.52, *I*- 0.48.



Ryc. 3. Rozkład częstości genotypów polimorfizmu *I/D* *ACE* badanej grupie

Tab.16. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *I/D* genu *ACE* w badanej grupie w zależności od zgonu

	Zgon	Bez zgonu
DD (n)	17%(5)	28% (184)
ID (n)	52% (15)	49% (326)
II (n)	31% (9)	23% (152)
Razem (n)	100% (29)	100% (662)
Częstość alleli D/I	0.43/0.57	0.52/0.48
OR DD vs ID+II	0.39 (95%CI 0.33-0.46), p=0.21	
OR DD+ID vs. II	1.49 (95%CI 0.66-3.34), p=0.34	

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów między chorymi, którzy zmarli w trakcie obserwacji a chorymi żyjącymi zarówno w modelu recesywnym (*DD* vs *ID+II*), jak i dominującym (*DD+ID* vs *II*) (tab.16).

Tab.17. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *I/D* genu *ACE* w badanej grupie w zależności od zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych

	Zgon z przyczyn sercowo-naczyniowych	Bez zgonu
DD (n)	12% (1)	28% (191)
ID (n)	25% (2)	49% (335)
II (n)	63% (5)	23% (157)
Razem (n)	100% (8)	100% (683)
Częstość alleli D/I	0.25/0.75	0.52/0.48
OR DD vs ID+II	0.37 (95%CI 0.05-3.04), p=0.35	
OR DD+ID vs. II	0.18 (95%CI 0.04-0.77), p=0.02*	

W modelu dominującym (*DD+ID* vs *II*) stwierdzono istotny związek między częstością zgonów sercowo- naczyniowych a występowaniem alleli I (tab.17).

Tab.18. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *I/D* genu *ACE* w badanej grupie w zależności od przebytego zawału serca

	Zawał	Bez zawału
DD (n)	34 %(10)	29% (192)
ID (n)	48% (14)	49% (324)
II (n)	18% (5)	22% (146)
Razem (n)	100% (29)	100% (662)
Częstość alleli D/I	0.59/0.41	0.53/0.47
OR DD vs ID+II	0.76 (95%CI 0.34-1,67), p=0.49	
OR DD+ID vs. II	1.35 (95%CI 0.51-3.65), p=0.54	

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów między chorymi z przebyłym zawałem serca w trakcie obserwacji a pacjentami bez przebytego zawału serca zarówno w modelu recesywnym (*DD* vs *ID+II*), jak i dominującym (*DD+ID* vs *II*) (tab.18).

Tab.19. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *I/D* genu *ACE* w badanej grupie w zależności od rozpoznanej choroby wieńcowej (dane dla 664 chorych)

	CAD	Bez CAD
DD (n)	30 %(19)	28% (176)
ID (n)	53% (34)	49% (307)
II (n)	17% (11)	23% (144)
Razem (n)	100% (64)	100% (627)
Częstość alleli D/I	0.56/0.44	0.53/0.47
OR DD vs ID+II	0,93 (95%CI 0.53-1.65), p=0.8	
OR DD+ID vs. II	1.42 (95%CI 0.72-2.82), p=0.31	

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów między chorymi z rozpoznaną w trakcie obserwacji chorobą niedokrwienną a pacjentami bez choroby niedokrwiennej serca zarówno w modelu recesywnym (*DD* vs *ID+II*), jak i dominującym (*DD+ID* vs *II*) (tab.19).

Tab.20. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *I/D* genu *ACE* w badanej grupie w zależności od zgonu lub przebytego zawału serca

	Zgon lub zawał serca	Bez zgonu i zawału serca
DD (n)	24 %(12)	29% (186)
ID (n)	49% (25)	49% (314)
II (n)	27% (14)	22% (140)
Razem (n)	100% (51)	100% (640)
Częstość alleli D/I	0.48/0.52	0.54/0.46
OR DD vs ID+II	0,76 (95%CI 0.39-1.49), p=0.43	
OR DD+ID vs. II	1.35 (95%CI 0.7-2.58), p=0.37	

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów między chorymi, którzy zmarli lub przebyli zawał serca w trakcie obserwacji a pacjentami, którzy przeżyli i nie przebyli zawału serca zarówno w modelu recesywnym (*DD* vs *ID+II*), jak i dominującym (*DD+ID* vs *II*) (tab.20).

Tab.21. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *I/D* genu *ACE* w badanej grupie w zależności od zgonu lub przebytego zawału serca

	Zgon z przyczyn sercowo-naczyniowych lub zawał serca	Bez zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych i bez zawału serca
DD (n)	27 %(8)	27% (178)
ID (n)	40% (12)	52% (344)
II (n)	33% (10)	21% (139)
Razem (n)	100% (30)	100% (661)
Częstość alleli D/I	0.47/0.53	0.53/0.47
OR DD vs ID+II	0,91 (95%CI 0.4-2.1), p=0.83	
OR DD+ID vs. II	1.79 (95%CI 0.81-3.93), p=0.15	

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów między chorymi, którzy zmarli z przyczyn sercowo-naczyniowych lub przebyli zawał serca w trakcie obserwacji a pacjentami, którzy przeżyli i nie przebyli zawału serca zarówno w modelu recesywnym (*DD vs ID+II*), jak i dominującym (*DD+ID vs II*) (tab.21).

Tab.22. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *I/D* genu *ACE* w badanej grupie w zależności od zgonu, przebytego zawału serca lub choroby wieńcowej

	Zgon, zawał serca lub choroba niedokrwienna serca	Bez zgonu, zawału serca i choroby niedokrwiennej serca
DD (n)	25 %(21)	29% (176)
ID (n)	53% (44)	49% (298)
II (n)	22% (18)	22% (134)
Razem (n)	100% (83)	100% (608)
Częstość alleli D/I	0.52/0.48	0.53/0.47
OR DD vs ID+II	0,86 (95%CI 0.51-1.47), p=0.58	
OR DD+ID vs. II	1.05 (95%CI 0.59-1.84), p=0.88	

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów między chorymi, którzy zmarli, przebyli zawał serca lub u których w trakcie obserwacji rozpoznano chorobę niedokrwienną serca a pacjentami, którzy przeżyli, nie przebyli zawału serca i u których

nie rozpoznano choroby niedokrwiennej serca zarówno w modelu recesywnym (*DD vs ID+II*), jak i dominującym (*DD+ID vs II*) (tab.22).

Tab.23. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *I/D* genu *ACE* w badanej grupie w zależności od zgonu z powodów sercowo- naczyniowych, przebytego zawału serca lub choroby wieńcowej

	Poważne incydenty sercowo- naczyniowe	Bez poważnych incydentów sercowo- naczyniowych
DD (n)	27 % (17)	28% (176)
ID (n)	51% (32)	49% (308)
II (n)	22% (14)	23% (144)
Razem (n)	100% (63)	100% (628)
Częstość alleli D/I	0.52/0.48	0.53/0.47
OR DD vs ID+II	0,94 (95%CI 0.52-1.68), p=0.82	
OR DD+ID vs. II	0.98 (95%CI 0.51-1.85), p=0.94	

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów między chorymi, którzy zmarli z powodów sercowo- naczyniowych, przebyli zawał serca lub u których w trakcie obserwacji rozpoznano chorobę niedokrwinną serca a pozostałymi pacjentami, zarówno w modelu recesywnym (*DD vs ID+II*), jak i dominującym (*DD+ID vs II*) (tab.23).

Tab.24. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *I/D* genu *ACE* w badanej grupie w zależności od rozpoznanej przedwcześnie choroby wieńcowej

	Przedwczesna choroba niedokrwienności serca	Bez przedwczesnej choroby niedokrwiennej serca
DD (n)	31 % (11)	29% (190)
ID (n)	54% (19)	49% (322)
II (n)	15% (5)	22% (144)
Razem (n)	100% (35)	100% (656)
Częstość alleli D/I	0.59/0.41	0.54/0.46
OR DD vs ID+II	0,87 (95%CI 0.42-1.82), p=0.71	
OR DD+ID vs. II	1.75 (95%CI 0.66-4.6), p=0.26	

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów między chorymi, u których w trakcie obserwacji rozpoznano przedwczesną chorobę niedokrwienną serca a pacjentami, u których nie rozpoznano przedwczesnej choroby niedokrwiennej serca zarówno w modelu recesywnym (DD vs $ID+II$), jak i dominującym ($DD+ID$ vs II) (tab.24).

Tab.25. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu I/D genu ACE w badanej grupie w zależności od dodatniego wywiadu rodzinnego

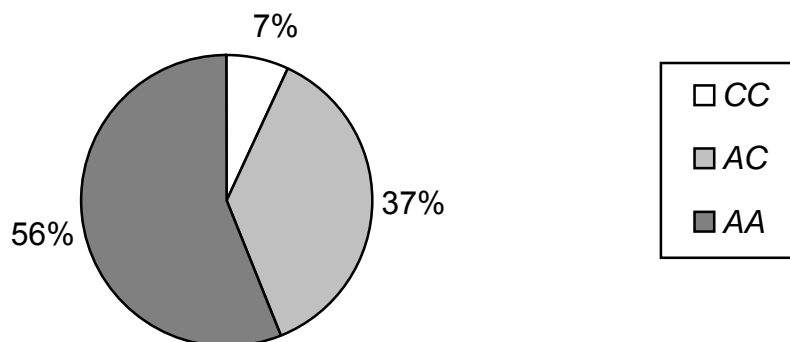
	Dodatni wywiad rodzinny	Ujemny wywiad rodzinny
DD (n)	27 %(44)	30% (158)
ID (n)	53 %(87)	47%(249)
II (n)	20%(32)	23% (121)
Razem (n)	100% (163)	100% (528)
Częstość alleli D/I	0.54/0.46	0.54/0.46
OR DD vs ID+II	0,89 (95%CI 0.59-1.34), p=0.56	
OR DD+ID vs. II	1.25 (95%CI 0.79-1.97), p=0.34	

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów między chorymi z dodatnim wywiadem rodzinnym a pacjentami bez dodatniego wywiadu rodzinnego zarówno w modelu recesywnym (DD vs $ID+II$), jak i dominującym ($DD+ID$ vs II) (tab.25).

5.12 Polimorfizm $A1166C$ genu receptora $AT1$

W badanej grupie 643 (brak danych dla 48 pacjentów) chorych stwierdzono następujący rozkład częstości genotypów polimorfizmu $A1166C$ genu receptora $AT1$: CC -7%, AC -37% i AA -56%, który pozostawał w zgodzie z równowagą Hardy-Weinberga. Poszczególne allele występowały z częstością: C - 0.26, A - 0.74.

Ryc. 4 Rozkład częstości genotypów polimorfizmu *A1166C* genu receptora *AT1* badanej grupie



Tab.26. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *A1166C* genu receptora *AT1* w badanej grupie w zależności od zgonu

	Zgon	Bez zgonu
CC (n)	4% (1)	7% (44)
AC (n)	52% (13)	37% (231)
AA (n)	44% (11)	56% (343)
Razem (n)	100% (25)	100% (618)
Częstość alleli C/A	0.3/0.7	0.26/0.74
OR CC+AC vs AA	0.98 (95%CI 0.45-2.11), p=0.96	
OR CC vs. AC+AA	0.54 (95%CI 0.07-4.12), p=0.55	

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów między chorymi, którzy zmarli w trakcie obserwacji a chorymi żyjącymi zarówno w modelu recesywnym (*CC* vs *AC+AA*), jak i dominującym (*CC+AC* vs *AA*) (tab.26).

Tab.27. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *A1166C* genu receptora *AT* w badanej grupie w zależności od zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych

	Zgon z przyczyn sercowo-naczyniowych	Bez zgonu
CC (n)	0% (0)	7% (45)
AC (n)	75% (6)	37% (234)
AA (n)	25% (2)	56% (356)

Razem (n)	100% (8)	100% (635)
Częstość alleli C/A	0.3/0.7	0.26/0.74
OR CC+AC vs AA	2.51 (95%CI 0.46-13.9), p=0.29	

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów między chorymi, którzy zmarli w trakcie obserwacji z powodów sercowo- naczyniowych a chorymi żyjącymi, zarówno w modelu dominującym (*CC+AC* vs *AA*). Z uwagi na brak zgonów sercowo- naczyniowych wśród osób z genotypem *CC*, nie badano modelu recesywnego (*CC* vs *AC+AA*). (tab.27).

Tab.28. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *A1166C* genu receptora *AT1* w badanej grupie w zależności od przebytego zawału serca

	Zawał	Bez zawału
CC (n)	4 %(1)	7% (43)
AC (n)	46% (12)	37% (228)
AA (n)	50% (13)	56% (346)
Razem (n)	100% (26)	100% (617)
Częstość alleli C/A	0.27/0.73	0.25/0.75
OR CC+AC vs AA	0.50 (95%CI 0.07-3.85), p=0.5	
OR CC vs. AC+AA	1.27 (95%CI 0.58-2.8), p=0.55	

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów między chorymi z przebyłym zawałem serca w trakcie obserwacji a pacjentami bez przebytego zawału serca zarówno w modelu recesywnym (*CC* vs *AC+AA*), jak i dominującym (*CC+AC* vs *AA*)(tab.28).

Tab.29. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *A1166C* genu receptora *AT1* w badanej grupie w zależności od rozpoznanej choroby wieńcowej

	CAD	Bez CAD
CC (n)	7 %(4)	7% (41)
AC (n)	45% (27)	36% (210)
AA (n)	48% (29)	57% (332)
Razem (n)	100% (60)	100% (583)
Częstość alleli C/A	0.29/0.71	0.25/0.75

OR CC+AC vs AA	1,41 (95%CI 0.82-2.42), p=0.2
OR CC vs. AC+AA	0.93 (95%CI 0.32-2.73), p=0.9

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów między chorymi z rozpoznaną w trakcie obserwacji chorobą niedokrwienną a pacjentami bez choroby niedokrwiennej serca zarówno w modelu recesywnym (*CC* vs *AC+AA*), jak i dominującym (*CC+AC* vs *AA*)(tab.29).

Tab.30. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *A1166C genu receptora AT1* w badanej grupie w zależności od zgonu lub przebytego zawału serca

	Zgon lub zawał serca	Bez zgonu i zawału serca
CC (n)	4 %(2)	8% (48)
AC (n)	46% (21)	36% (215)
AA (n)	50% (23)	56% (334)
Razem (n)	100% (46)	100% (597)
Częstość alleli C/A	0.27/0.73	0.26/0.74
OR CC+AC vs AA	1,28 (95%CI 0.70-2.35), p=0.42	
OR CC vs. AC+AA	0.57 (95%CI 0.13-2.46), p=0.45	

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów między chorymi, którzy zmarli lub przebyli zawał serca w trakcie obserwacji a pacjentami, którzy przeżyli i nie przebyli zawału serca zarówno w modelu recesywnym (*CC* vs *AC+AA*), jak i dominującym (*CC+AC* vs *AA*)(tab.30).

Tab.31. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *A1166C genu receptora AT1* w badanej grupie w zależności od zgonu, przebytego zawału serca lub choroby wieńcowej

	Zgon, zawał serca lub choroba niedokrwienna serca	Bez zgonu, zawału serca i choroby niedokrwiennej serca
CC (n)	7 %(5)	7% (40)
AC (n)	44% (34)	36% (204)
AA (n)	49% (38)	57% (322)
Razem (n)	100% (77)	100% (566)
Częstość alleli C/A	0.29/0.71	0.25/0.75

OR CC+AC vs AA	1,35 (95%CI 0.84-2.20), p=0.22
OR DD+ID vs. II	0.89 (95%CI 0.34-2.36), p=0.82

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów między chorymi, którzy zmarli, przeżyli zawał serca lub u których w trakcie obserwacji rozpoznano chorobę niedokrwienną serca a pacjentami, którzy przeżyli, nie przeżyli zawału serca i u których nie rozpoznano choroby niedokrwiennej serca zarówno w modelu recesywnym (*CC* vs *AC+AA*), jak i dominującym (*CC+AC* vs *AA*)(tab.31).

Tab.32. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *A1166C genu receptora AT1* w badanej grupie w zależności od rozpoznanej przedwcześnie choroby wieńcowej

	Przedwczesna choroba niedokrwienna serca	Bez przedwczesnej choroby niedokrwiennej serca
CC (n)	3 %(1)	7% (42)
AC (n)	39% (13)	37% (226)
AA (n)	58% (19)	56% (342)
Razem (n)	100% (33)	100% (610)
Częstość alleli C/A	0.23/0.77	0.25/0.75
OR CC+AC vs AA	0,93 (95%CI 0.45-1.90), p=0.84	
OR CC vs. AC+AA	0.39 (95%CI 0.05-2.98), p=0.37	

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów między chorymi, u których w trakcie obserwacji rozpoznano przedwczesną chorobę niedokrwienną serca a pacjentami, u których nie rozpoznano przedwczesnej choroby niedokrwiennej serca zarówno w modelu recesywnym (*CC* vs *AC+AA*), jak i dominującym (*CC+AC* vs *AA*)(tab.32).

Tab.33. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *A1166C genu receptora AT1* w badanej grupie w zależności od dodatniego wywiadu rodzinnego

	Dodatni wywiad rodzinny	Ujemny wywiad rodzinny
CC (n)	9 %(13)	7% (34)
AC (n)	31 %(48)	39%(191)
AA (n)	60 %(91)	54% (266)
Razem (n)	100% (152)	100% (491)

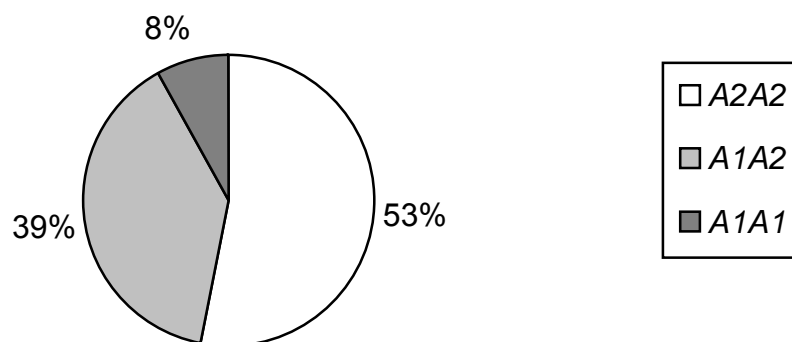
Częstość alleli C/A	0.24/0.76	0.26/0.74
OR CC+AC vs AA	0,79 (95%CI 0.54-1.16), p=0.23	
OR CC vs. AC+AA	1.33 (95%CI 0.66-2.70), p=0.42	

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów między chorymi z dodatnim wywiadem rodzinnym a pacjentami bez dodatniego wywiadu rodzinnego zarówno w modelu recesywnym (*CC* vs *AC+AA*), jak i dominującym (*CC+AC* vs *AA*)(tab.33).

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

W badanej grupie 664 pacjentów (brak danych dla 27 osób) stwierdzono następujący rozkład częstości genotypów polimorfizmu *ScaI A2/A1 ANP*: *A2A2*-53%, *A1A2*-39% i *A1A1*-8%, który pozostawał w zgodzie z równowagą Hardy-Weinberga. Poszczególne allele występowały z częstością: *A2*- 0.73 i *A1*- 0.27.

Ryc. 5 Rozkład częstości genotypów polimorfizmu *ScaI ANP* badanej grupie



Tab.34. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *ScaI ANP* w badanej grupie w zależności od zgonu (dane dla 664 pacjentów)

	Zgon	Bez zgonu
A2A2 (n)	57% (16)	53% (336)
A1A2 (n)	36% (10)	39% (250)
A1A1 (n)	7% (2)	8% (50)
Razem (n)	100% (28)	100% (636)

Częstość alleli A2/A1	0.75/0.25	0.72/0.28
OR A1A1 vs A1A2+A2A2	0.90 (95%CI 0.21-3.92), p=0.89	
OR* A1A1+ A1A2 vs A2A2	1.19 (95%CI 0.55-2.56), p=0.65	

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów *ScaI A1/A2 ANP* między chorymi, którzy zmarli w trakcie obserwacji a chorymi żyjącymi (tab.34).

Tab.35. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *ScaI ANP* w badanej grupie w zależności od zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych (dane dla 664 pacjentów)

	Zgon z przyczyn sercowo-naczyniowych	Bez zgonu
A2A2 (n)	43% (3)	53% (348)
A1A2 (n)	43% (4)	39% (256)
A1A1 (n)	14% (1)	8% (52)
Razem (n)	100% (8)	100% (656)
Częstość alleli A2/A1	0.75/0.25	0.72/0.28
OR A1A1 vs A1A2+A2A2	1.98 (95%CI 0.23-16.8), p=0.53	
OR* A1A1+ A1A2 vs A2A2	0.66 (95%CI 0.15-3.00), p=0.59	

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów *ScaI A1/A2 ANP* między chorymi, którzy zmarli w trakcie obserwacji z powodów sercowo-naczyniowych a chorymi żyjącymi (tab.35).

Tab.36. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *ScaI ANP* w badanej grupie w zależności od przebytego zawału mięśnia sercowego

	Zawał	Bez zawału
A2A2 (n)	54 % (14)	53% (338)
A1A2 (n)	38% (10)	40% (255)
A1A1 (n)	15% (4)	7% (45)
Razem (n)	100% (26)	100% (638)
Częstość alleli A2/A1	0.68/0.32	0.73/0.27
OR A1A1 vs A1A2+A2A2	2.57 (95%CI 0.84-7.90), p=0.098	
OR* A1A1+ A1A2 vs A2A2	1.03 (95%CI 0.47-2.30), p=0.93	

W badanej grupie nie obserwowano związku pomiędzy polimorfizmem *ScaI A1/A2 ANP* a przebytym trakcie obserwacji zawałem serca (tab.36).

Tab.37. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *ScaI ANP* w badanej grupie w zależności od rozpoznanej choroby wieńcowej

	CAD	Bez CAD
A2A2 (n)	51 %(31)	54% (326)
A1A2 (n)	39% (24)	39% (235)
A1A1 (n)	10% (6)	7% (42)
Razem (n)	100% (61)	100% (603)
Częstość alleli A2/A1	0.7/0.3	0.74/0.26
OR A1A1 vs A1A2+A2A2	1,51 (95%CI 0.61-3.77), p=0.38	
OR* A1A1+ A1A2 vs A2A2	0.89 (95%CI 0.53-1.53), p=0.68	

W badanej grupie nie obserwowano związku pomiędzy polimorfizmem *ScaI A1/A2 ANP* a rozpoznaną w trakcie obserwacji chorobą niedokrwienną serca (tab.37).

Tab.38. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *ScaI ANP* w badanej grupie w zależności od zgonu lub przebytego zawału serca

	Zgon lub zawał serca	Bez zgonu i zawału serca
A2A2 (n)	53 %(25)	53% (327)
A1A2 (n)	34% (16)	40% (247)
A1A1 (n)	13% (6)	7% (43)
Razem (n)	100% (47)	100% (617)
Częstość alleli A2/A1	0.7/0.3	0.73/0.27
OR A1A1 vs A1A2+A2A2	2,06 (95%CI 0.82-5.20), p=0.13	
OR* A1A1+ A1A2 vs A2A2	0.81 (95%CI 0.59-2.62), p=0.79	

W badanej grupie nie obserwowano związku pomiędzy polimorfizmem *ScaI A1/A2 ANP* a zgonem lub przebytym zawałem serca (tab.38).

Tab.39. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *ScaI ANP* w badanej grupie w zależności od zgonu, przebytego zawału serca lub rozpoznanej choroby wieńcowej

	Zgon, zawał serca lub choroba niedokrwienna serca	Bez zgonu, zawału serca i choroby niedokrwiennej serca
A2A2 (n)	51% (40)	53% (310)
A1A2 (n)	40% (32)	40% (234)
A1A1 (n)	9% (7)	7% (41)
Razem (n)	100% (79)	100% (585)
Częstość alleli A2/A1	0.71/0.29	0.73/0.27
OR A1A1 vs A1A2+A2A2	1,32 (95%CI 0.56-3.10), p=0.52	
OR* A1A1+ A1A2 vs A2A2	0.89 (95%CI 0.55-1.44), p=0.64	

W badanej grupie nie obserwowano związku pomiędzy polimorfizmem *ScaI A1/A2 ANP* a zgonem, przebytym zawałem lub rozpoznaną chorobą wieńcową (tab.39).

Tab.40. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *ScaI ANP* w badanej grupie w zależności od rozpoznanej przedwcześnie choroby wieńcowej

	Przedwczesna choroba niedokrwienna serca	Bez przedwczesnej choroby niedokrwiennej serca
A2A2 (n)	48 %(16)	54% (341)
A1A2 (n)	36% (12)	40% (252)
A1A1 (n)	16% (5)	6% (38)
Razem (n)	100% (33)	100% (631)
Częstość alleli A2/A1	0.67/0.33	0.74/0.26
OR A1A1 vs A1A2+A2A2	<u>2,60 (95%CI 0.94-7.20), p=0.06</u>	
OR* A1A1+ A1A2 vs A2A2	0.82 (95%CI 0.40-1.66), p=0.58	

Nieistotnie częściej obserwowano genotyp *A1A1* polimorfizmu *ScaI ANP* w grupie chorych z rozpoznaną przedwcześnie chorobą wieńcową (tab.37). Współczynnik ryzyka względnego dla modelu dominującego (*A1A1* vs *A1A2+A2A2*) wyniósł OR 2.6 (95%CI 0.94-7.20), p=0.06.

Tab.41. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *A1166C genu receptora AT1* w badanej grupie w zależności od dodatniego wywiadu rodzinnego (dane dla 526 chorych)

	Dodatni wywiad rodzinny	Ujemny wywiad rodzinny
A2A2 (n)	50 %(80)	54% (273)
A1A2 (n)	41 %(65)	39%(197)
A1A1 (n)	9 %(14)	7% (35)
Razem (n)	100% (159)	100% (505)
Częstość alleli A2/A1	0.7/0.3	0.74/0.26
OR A1A1 vs A1A2+A2A2	1,38 (95%CI 0.69-2.75), p=0.35	
OR* A1A1+ A1A2 vs A2A2	0.84 (95%CI 0.58-1.22), p=0.35	

W badanej grupie nie obserwowano związku pomiędzy polimorfizmem *ScaI A1/A2 ANP* a dodatnim wywiadem rodzinnym (tab.41).

5.14 Polimorfizm Leu33/Pro genu glikoproteiny płytkowej (*PLA1/PLA2 GPIIIa*)

W badanej grupie 668 chorych (brak danych dla 23 osób) stwierdzono następujący rozkład częstości genotypów polimorfizmu *PLA1/PLA2 GPIIIa*: *PLA2A2*-2% (n=16), *PLA1A2*-23% (n=153) i *PLA1A1*-75% (n=497), który pozostawał w zgodzie z równowagą Hardy-Weinberga. Poszczególne allele występowały z częstością: *PLA1*- 0.86, *PLA2*- 0.14.

Ryc. 6. Rozkład częstości genotypów polimorfizmu *PLA1/PLA2 GPIIIa* badanej grupie

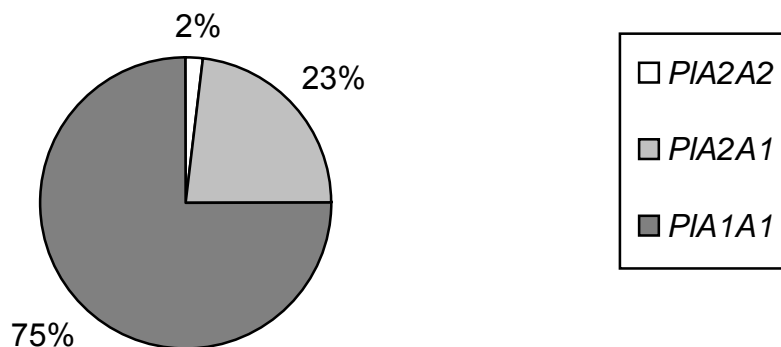


Tabela 42. Rozkłady genotypów i alleli *PIA1/PIA2 GPIIIa* w badanej grupie w zależności od zgonu (dane dla 668 pacjentów)

	Zgon	Bez zgonu
PIA2A2 (n)	0% (0)	2% (15)
PIA1A2 (n)	25% (7)	23% (147)
PIA1A1 (n)	75% (21)	75% (478)
Razem (n)	100% (28)	100% (640)
Częstość alleli PIA2/PIA1	0.13/0.87	0.14/0.86
OR PIA2A2+PIA1A2 vs PIA1A1	0.98 (95%CI 0.40-2.41), p=0.97	

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów *PIA1/PIA2 GPIIIa* glikoproteiny płytkowej między chorymi, którzy zmarli w trakcie obserwacji a chorymi żyjącymi (tab.42).

Tab.43. Rozkłady genotypów i alleli *PIA1/PIA2 GPIIIa* w badanej grupie w zależności od zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych

	Zgon z przyczyn sercowo-naczyniowych	Bez zgonu
PIA2A2 (n)	0% (0)	2% (13)
PIA1A2 (n)	14% (1)	23% (152)
PIA1A1 (n)	86% (7)	75% (495)
Razem (n)	100% (8)	100% (660)
Częstość alleli PIA2/PIA1	0.13/0.87	0.14/0.86

OR PIA2A2+PIA1A2 vs PIA1A1	0.49 (95%CI 0.06-4,12), p=0.51
-----------------------------------	--------------------------------

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów *PIA1/PIA2 GPIIIa* glikoproteiny płytkowej między chorymi, którzy zmarli w trakcie obserwacji a chorymi żyjącymi (tab.43).

Tab.44. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *PIA1/PIA2 GPIIIa* w badanej grupie w zależności od przebytego zawału mięśnia sercowego

	Zawał	Bez zawału
PIA2A2 (n)	4 %(1)	2% (13)
PIA1A2 (n)	37% (10)	23% (147)
PIA1A1 (n)	59% (16)	75% (481)
Razem (n)	100% (27)	100% (641)
Częstość alleli PIA2/PIA1	0.22/0.78	0.13/0.87
OR PIA2A2+PIA1A2 vs PIA1A1	2.07 (95%CI 0.94-4.59), p=0.07	
OR PIA2A2vsPIA1A2 + PIA1A1	1.77 (95%CI 0.22-14.32), p=0.59	

W badanej grupie nie obserwowano związku pomiędzy polimorfizmem *PIA1/PIA2 GPIIIa* glikoproteiny płytkowej a przebyłym trakcie obserwacji zawałem serca (tab.44).

Tab.45. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *PIA1/PIA2 GPIIIa* w badanej grupie w zależności od rozpoznanej choroby wieńcowej

	CAD	Bez CAD
PIA2A2 (n)	2 %(1)	2% (12)
PIA1A2 (n)	27% (17)	23% (139)
PIA1A1 (n)	71% (44)	75% (455)
Razem (n)	100% (62)	100% (606)

Częstość alleli PIA2/PIA1	0.15/0.85	0.13/0.87
OR PIA2A2+PIA1A2 vs PIA1A1	1,21 (95%CI 0.68-2.18), p=0.52	
OR PIA2A2vsPIA1A2 + PIA1A1	0.72 (95%CI 0.09-5.67), p=0.75	

W badanej grupie nie obserwowano związku pomiędzy polimorfizmem *PIA1/PIA2 GPIIIa* glikoproteiny płytkowej a rozpoznaną w trakcie obserwacji chorobą niedokrwienną serca (tab.45).

Tab.46. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *PIA1/PIA2 GPIIIa* w badanej grupie w zależności od zgonu lub przebytego zawału serca (dane dla 565 pacjentów)

	Zgon lub zawał serca	Bez zgonu i zawału serca
PIA2A2 (n)	2 % (1)	2% (12)
PIA1A2 (n)	31% (15)	23% (143)
PIA1A1 (n)	67% (32)	75% (465)
Razem (n)	100% (48)	100% (620)
Częstość alleli PIA2/PIA1	0.18/0.82	0.13/0.87
OR PIA2A2+PIA1A2 vs PIA1A1	1,52 (95%CI 0.80-2.86), p=0.20	
OR PIA2A2vsPIA1A2 + PIA1A1	0,96 (95%CI 0.12-7.78), p=0.97	

W badanej grupie nie obserwowano związku pomiędzy polimorfizmem *PIA1/PIA2 GPIIIa* a zgonem lub przebyłym zawałem serca (tab.46).

Tab.47. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *PIA1/PIA2 GPIIIa* w badanej grupie w zależności od zgonu, przebytego zawału serca lub rozpoznanej choroby wieńcowej

	Zgon, zawał serca lub choroba niedokrwienna serca	Bez zgonu, zawału serca i choroby niedokrwiennej serca
PIA2A2 (n)	1% (1)	2% (12)
PIA1A2 (n)	25% (20)	23% (135)
PIA1A1 (n)	74% (59)	75% (441)

Razem (n)	100% (80)	100% (588)
Częstość alleli PIA2/PIA1	0.14/0.86	0.14/0.86
OR PIA2A2+PIA1A2 vs PIA1A1	1,04 (95%CI 0.61-1.80), p=0.87	
OR PIA2A2vsPIA1A2 + PIA1A1	0.49 (95%CI 0.06-3.85), p=0.5	

W badanej grupie nie obserwowano związku pomiędzy polimorfizmem *PIA1/PIA2 GPIIIa* glikoproteiny płytkowej a zgonem, przebyłym zawałem lub rozpoznaną chorobą wieńcową (tab.47).

Tab.48. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *PIA1/PIA2 GPIIIa* w badanej grupie w zależności od rozpoznanej przedwcześnie choroby wieńcowej

	Przedwczesna choroba niedokrwienna serca	Bez przedwczesnej choroby niedokrwiennej serca
PIA2A2 (n)	3 %(1)	2% (13)
PIA1A2 (n)	27% (9)	23% (146)
PIA1A1 (n)	70% (23)	75% (476)
Razem (n)	100% (33)	100% (635)
Częstość alleli PIA2/PIA1	0.17/0.83	0.14/0.86
OR PIA2A2+PIA1A2 vs PIA1A1	1,27 (95%CI 0.59-2.75), p=0.54	
OR PIA2A2vsPIA1A2 + PIA1A1	1.44 (95%CI 0.18-11.56), p=0.73	

W badanej grupie nie obserwowano związku pomiędzy polimorfizmem *PIA1/PIA2 GPIIIa* glikoproteiny płytkowej a przedwcześnie rozpoznaną chorobą wieńcową (tab.48)

Tab.49. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *PIA1/PIA2 GPIIIa* w badanej grupie w zależności od dodatniego wywiadu rodzinnego

	Dodatni wywiad rodzinny	Ujemny wywiad rodzinny
PIA2A2 (n)	2 %(3)	2% (10)
PIA1A2 (n)	21 %(34)	24%(122)
PIA1A1 (n)	77 %(122)	74% (377)

Razem (n)	100% (159)	100% (509)
Częstość alleli PIA2/PIA1	0.13/0.87	0.14/0.86
OR PIA2A2+PIA1A2 vs PIA1A1	0,84 (95%CI 0.55-1.31), p=0.45	
OR PIA2A2vsPIA1A2 + PIA1A1	0.77 (95%CI 0.21-2.90), p=0.70	

W badanej grupie nie obserwowano związku pomiędzy polimorfizmem *PIA1/PIA2 GPIIIa* glikoproteiny płytkowej a dodatnim wywiadem rodzinnym (tab.49).

5.15. Rozkład genotypów polimorfizmu *I/D* genu *ACE* a inne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego

Tab.50. Rozkład genotypów polimorfizmu *I/D* genu *ACE* a inne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego.

Czynnik ryzyka	DD	ID	II	p
Wiek (lata)	44±9	44±9	44±9	0.78
BMI (kg/m²)	26±6	27±5	27±5	0.92
Cholesterol całkowity* (mg%)	230±48	229±50	228±45	0.92
Cholesterol LDL* (mg%)	150±44	149±46	149±40	0.94
Cholesterol HDL (mg%)	50±16	49±18	50±16	0.59
Trójglicerydy (mg%)	147±123	158±164	143±103	0.47
Glukoza (mg%)	86±15	87±20	88±21	0.83
SBP (mm Hg)	135±22	133±20	130±20	0.12
DBP (mm Hg)	85±12	84±12	83±12	0.29
WHR	0,91±0,08	0,92±0,07	0,94±0,13	0.09
Nadciśnienie tętnicze (%)	49	49	42	0.36
Cukrzyca (%)	2	2	3	0.76
Tytoń (%)	51	52	47	0.51
Wieńcowy wywiad rodzinny (%)	28	33	27	0.40
SCORE	3,82±4,11	4,13±4,59	4,31±4,87	0,61

Nie stwierdzono istotnego związku między polimorfizmem *I/D* *ACE* a podstawowymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego (tab.50).

5.16. Rozkład genotypów polimorfizmu *A1166C* genu receptora angiotensyny II typu 1 (*A1166C AT1R*) a inne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego

Tab.51. Rozkład genotypów polimorfizmu *A1166C* genu receptora angiotensyny II typu 1 (*A1166C AT1R*) a inne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego.

Czynnik ryzyka	AA	AC	CC	p
Wiek (lata)	45±8	44±9	45±11	0.73
BMI (kg/m ²)	27±5	27±5	25±7	0.06
Cholesterol całkowity* (mg%)	228±50	230±47	224±47	0.65
Cholesterol LDL* (mg%)	148±44	150±44	146±43	0.73
Cholesterol HDL (mg%)	49±16	50±18	53±20	0.36
Trójglicerydy (mg%)	157±158	149±129	139±96	0.65
Glukoza (mg%)	88±23	87±14	83±11	0.38
SBP (mm Hg)	133±20	133±22	130±19	0.63
DBP (mm Hg)	84±12	85±12	81±11	0.21
WHR	0,93±0,11	0,92±0,08	0,92±0,07	0.67
Nadciśnienie tętnicze (%)	48	49	42	0.71
Cukrzyca (%)	3	3	0	0,29
Tytoń (%)	54	45	55	0.89
Wieńcowy wywiad rodzinny (%)	31	25	35	0.22
SCORE	3,87±3,80	4,00±4,30	4,8±5,72	0,39

Nie stwierdzono istotnego związku między polimorfizmem genu receptora angiotensyny II typu 1 (*A1166C AT1R*) a podstawowymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego (tab.51).

5.17. Rozkład genotypów polimorfizmu *ScaI* A1/A2 ANP a inne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego

Tab.52. Rozkład genotypów polimorfizmu *ScaI* A1/A2 ANP a inne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego.

Czynnik ryzyka	A2A2	A1A2	A1A1	p
Wiek (lata)	44±9	44±9	43±9	0.71
BMI (kg/m ²)	27±5	26±5	27±4	0.15
Cholesterol całkowity* (mg%)	228±46	228±48	242±58	0.13
Cholesterol LDL* (mg%)	149±41	147±45	162±53	0.08
Cholesterol HDL (mg%)	48±17	51±17	50±17	0.07
Trójglicerydy (mg%)	152±152	147±118	148±108	0.89
Glukoza* (mg%)	86±13	87±20	94±39	0.01*
SBP (mm Hg)	132±21	133±20	135±22	0.42
DBP (mm Hg)	84±12	84±11	84±13	0.73
WHR	0,92±0,07	0,92±0,12	0,94±0,06	0.39
Nadciśnienie tętnicze (%)	44	53	47	0.13
Cukrzyca (%)	3	2	6	0.36
Tytoń (%)	50	53	51	0.67
Wieńcowy wywiad rodzinny (%)	28	32	37	0.49
SCORE	3,90±3,99	4,01±4,81	4,51±5,06	0,66

Pacjenci z allelem A1A1 polimorfizmu *ScaI* ANP mieli znamienne wyższy poziom glikemii na czczo. Nie stwierdzono istotnie częstszego odsetka rozpoznanej cukrzycy w tej grupie.

5.18. Rozkład genotypów polimorfizmu *PLA1/PLA2 GPIIIa* a inne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego

Tab.53. Rozkład genotypów polimorfizmu *PLA1/PLA2 GPIIIa* a inne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego.

Czynnik ryzyka	PIA2A2	PIA1A2	PIA1A1	p
Wiek (lata)	41±13	44±9	44±9	0.35
BMI (kg/m ²)	26±5	27±5	27±5	0.75
Cholesterol całkowity* (mg%)	219±47	225±45	230±49	0.41
Cholesterol LDL* (mg%)	138±40	147±41	150±45	0.41
Cholesterol HDL (mg%)	47±16	49±15	50±18	0.86
Trójglicerydy (mg%)	167±125	145±95	151±147	0.77
Głukoza (mg%)	87±10	87±16	87±20	0.97
SBP (mm Hg)	136±23	134±21	132±20	0.43
DBP (mm Hg)	83±14	85±12	84±12	0.57
WHR	0,87±0,10	0,92±0,07	0,93±0,10	>0, 05*
Nadciśnienie tętnicze (%)	38	55	46	0.14
Cukrzyca (%)	0	4	2	0.41
Tytoń (%)	56	51	52	0.92
Wieńcowy wywiad rodzinny (%)	31	27	31	0.71
SCORE	3,86±3,96	4,12±4,18	4,00±4,61	0,96

Stwierdzono istotny statystycznie związek między allelem PIA2A2 polimorfizmu genu *PLA1/PLA2 GPIIIa* a znamienne niższym współczynnikiem WHR (tab.53).

VI. DYSKUSJA

6.1. Podstawowe czynniki ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego w badanej grupie

Ciśnienie tętnicze

Chorzy zmarli w okresie obserwacji byli znamienne starsi, mieli również znamienne częściej rozpoznane nadciśnienie tętnicze oraz istotnie wyższe wartości rozkurczowego ciśnienia tętniczego. Wprost proporcjonalna zależność między wiekiem a ilością zgonów jest oczywista, zaś większy odsetek osób z nadciśnieniem tętniczym wśród zmarłych ze wszystkich przyczyn sugeruje istotną w tej populacji rolę powikłań narządowych nadciśnienia tętniczego w odnotowanej umieralności i jest zgodny z wiedzą na temat klasycznych czynników ryzyka chorób układu sercowo- naczyniowego. Wśród osób zmarłych z przyczyn sercowo-naczyniowych odnotowano znamienne wyższe wartości ciśnienia tętniczego, zarówno skurczowego i rozkurczowego (SBP 154 ± 23 vs 132 ± 28 , DBP 95 ± 12 vs 84 ± 12). W grupie tej znamienne częściej odnotowano rozpoznane nadciśnienie tętnicze (87,5% vs 47,6%), co z jednej strony jest logiczną konsekwencją zależności ze zdania poprzedniego, z drugiej zaś może świadczyć o braku leczenia lub mało efektywnym leczeniu rozpoznanego nadciśnienia tętniczego. W świetle dostępnych danych na temat niskiej skuteczności leczenia nadciśnienia tętniczego (np. NATPOL PLUS szacuje odsetek skutecznie leczonych z powodu nadciśnienia tętniczego na 12% (105) zaś WOBASZ na 14,1% badanych (106) takie wytłumaczenie obserwowanej zależności wydaje się wysoce prawdopodobne. Związek między SBP z ryzykiem chorób układu sercowo- naczyniowego (CVD) ma charakter ciągły i niezależny od innych czynników ryzyka. Im większe skurczowe ciśnienie tętnicze, tym większa szansa na zawał mięśnia sercowego, niewydolność serca, udar czy nerkowe powikłania nadciśnienia. Wiemy, że wśród osób między 40 a 70 r. ż. wzrost SBP o każde 20 mmHg lub DBP o każde 10 mmHg w zakresie wartości ciśnienia tętniczego od 115/75 do 185/115 mm Hg. podwaja ryzyko chorób układu sercowo- naczyniowego (107). Obserwacje epidemiologiczne w Polsce pokazują dużą rozpiętość szacunkowych ocen występowania nadciśnienia tętniczego w populacji na poziomie od 29 % w programie NATPOL PLUS(105), przez 36% w badaniu WOBASZ, 44% w badaniu NATPOL II z 1997(108)

oraz od 41 do 44% w badaniu Pol MONICA(109). Warto zauważyć, że w obserwowanej przez mnie kohorcie częstość występowania nadciśnienia tętniczego jest średnio wyższa w obu podgrupach (87,5% vs 47,6%), zaś częstość nadciśnienia w grupie osób zmarłych z przyczyn sercowo- naczyniowych jest nawet wyższa niż zarejestrowana w badaniu POLSCREEN, gdzie odsetek ten był największy z przytoczonych badań (72,4%)(110). Warto odnotować fakt, że podobnie duże rozpiętości w szacunkowej częstości nadciśnienia tętniczego odnotowano w różnych populacjach na świecie od 55% w Niemczech (111) do 38% w Szwecji (112) aż do 27% w Kanadzie (113).

W analizowanych podgrupach podobny jak w POLSCREEN odsetek osób z rozpoznaniem nadciśnieniem tętniczym odnotowano wśród osób z przebyłym w trakcie obserwacji zawałem serca (70,37%) oraz w łącznie analizowanej grupie osób, które zmarły w czasie obserwacji lub przebyły zawał serca (70%). W analizowanych podgrupach zaobserwowano interesującą zależność: odsetek osób z rozpoznaniem nadciśnieniem tętniczym jest najwyższy wśród osób zmarłych z przyczyn sercowo- naczyniowych (87,5%), niższy wśród osób z przebyłym zawałem serca (70%) oraz wśród osób z rozpoznaną w czasie obserwacji chorobą wieńcową (64,91%) Istotna dla dalszych rozważań jest obserwacja dotycząca grupy chorych z przedwcześnie rozpoznaną chorobą wieńcową: odsetek osób z nadciśnieniem tętniczym nie różnił się statystycznie od grupy kontrolnej i był średnio niższy niż we wszystkich analizowanych grupach.

Cukrzyca

Cukrzyca zajmuje wyjątkowe miejsce wśród czynników ryzyka CVD. Ze względu na wysokość ryzyka incydentów CVD u pacjentów z cukrzycą bez jawnej choroby wieńcowej w zaleceniach ATP III uznano cukrzycę za równoważnik rozpoznanej choroby niedokrwiennej serca (114)

Zmarli z przyczyn sercowo- naczyniowych byli statystycznie starsi oraz mieli znacząco wyższe poziomy glikemii na czczo (96 ± 11 vs 87 ± 19 mg%), chociaż nie odnotowano w tej grupie zwiększonego odsetka chorych z rozpoznaną cukrzycą lub nietolerancją glukozy. Średnie wartości glikemii, mimo, że wyższe niż w grupie bez incydentu, są wciąż wartościami w granicach normy. Może to oznaczać, że w grupie zmarłych w okresie obserwacji były osoby z nieunormowaną glikemią i bez postawionego rozpoznania. Znamienność różnic w wartościach glikemii pozwala uznać za mniej

prawdopodobną przyczynę: pomiar glikemii u osób, które nie były na czczo w czasie badania.

Cholesterol

Przy łącznej analizie osób, które zmarły ze wszystkich przyczyn w czasie obserwacji z chorymi, którzy przebyli zawał mięśnia sercowego zwraca uwagę fakt, że osoby z incydem były istotnie starsze, miały wyższe średnie poziomy cholesterolu całkowitego oraz wyższe wartości ciśnienia tętniczego. Również znamienne częściej rozpoznawano w tej grupie nadciśnienie tętnicze (67,35 vs 47,57%). Pozostaje to w zgodzie z obserwacjami z licznych badań i publikacji na przestrzeni ostatnich kilkudziesięciu lat. Krzywa liniowej zależności między wiekiem a zgonami nie wymaga komentarza, zaś podobna relacja między stężeniem cholesterolu całkowitego w surowicy ze śmiertelnością jest uznaną prawdą naukową od czasu publikacji wyników dużych badań epidemiologicznych przeprowadzonych po II wojnie światowej (The Seven Country, the Ni-Hon – San, the Nortwick Park Study czy Prospective Cardiovascular Munster (PROKAM)(115). Związek w obserwowanej kohorcie jest na tyle silny, że widać go nawet wśród zgonów ze wszystkich przyczyn, co sugeruje potencjalnie duży wpływ na wynik osób zmarłych z powodów sercowo- naczyniowych, które – co warto podkreślić- stanowiły mniejszość wśród zmarłych (8 wśród 29 zgonów). Doskonale ilustruje to następująca charakterystyka obejmująca analizę osób zmarłych z powodów sercowo- naczyniowych wraz z osobami, które przebyły zawał mięśnia sercowego. Oprócz wspomnianych zależności pojawia się istotna statystycznie relacja między incydem a średnim stężeniem LDL cholesterolu.

Pacjenci, których przynajmniej jeden krewny pierwszego stopnia (rodzice, rodzeństwo) był obciążony chorobą wieńcową, byli istotnie młodsi od chorych bez rodzinnego obciążenia wieńcowego (tab.11). Dominuje powszechnie pogląd, iż choroba wieńcowa występująca rodzinnie ujawnia się częściej w młodszym wieku, zwykle poniżej 55 roku życia u mężczyzn i 60 roku życia u kobiet (116) Podstawową rolę w rozwoju rodzinnej choroby niedokrwiennej serca przypisuje się czynnikom genetycznym, chociaż niektórzy badacze uważają, iż istotną rolę odgrywają również podobne w rodzinie czynniki środowiskowe (dieta, styl życia itp.) (117)

Dokładna analiza podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo- naczyniowego była istotna dla określenia potencjalnego wpływu badanych wariantów polimorficznych na występowanie zgonów, w tym zgonów z przyczyn

sercowo- naczyniowych, przebytego zawału serca, oraz ich potencjalny związek z wieńcowym wywiadem rodzinnym. Czynniki środowiskowe mogą istotnie wpływać na ujawnienie się roli czynników genetycznych w kształtowaniu ostatecznego fenotypu - obrazu choroby.

SCORE

Grupa chorych zmarłych z powodów sercowo- naczyniowych charakteryzowała się istotnie wyższym współczynnikiem SCORE ($13,6 \pm 14,8$ vs $3,9 \pm 4,1$). Potwierdza to wysoką wartość prognostyczną SCORE w ocenie ryzyka zgonu z przyczyn sercowo- naczyniowych. Leżąca u podstaw stworzenia SCORE koncepcja ryzyka ogólnego, uwzględniająca synergistyczny wzrost ryzyka przy współdziałaniu kilku czynników ryzyka, w miejsce oceny wartości poszczególnych czynników ryzyka oddzielnie(118), wydaje się szczególnie użyteczna dla celów niniejszego opracowania. Algorytm stworzony w oparciu o 12 europejskich badań kohortowych obejmujących łącznie ponad 200 tysięcy badanych(119) wykorzystuje model Weibull, w którym wiek odzwierciedla czas ekspozycji na działanie czynników ryzyka. Polska wersja systemu ryzyka SCORE, udostępniona do powszechnego użytku na stronach internetowych ESC we wrześniu 2006 roku (120) została wykorzystana do niniejszej analizy.

Interesująco wyglądają wyniki analizy częstości występowania czynników ryzyka w grupie chorych z przebytym w okresie obserwacji zawałem mięśnia sercowego. Chorzy z przebytym zawałem byli znamienne starsi (51 ± 7 vs 44 ± 8), mieli istotnie wyższe ciśnienie skurczowe(SBP 142 ± 22 vs 132 ± 20), częściej rozpoznane nadciśnienie tętnicze(70, 37% vs 47,14%) oraz wyższy wskaźnik WHR ($0,95 \pm 0,07$ vs $0,92 \pm 0,1$). Znamienne częściej odnotowano w tej grupie dodatni wywiad rodzinny w kierunku chorób układu sercowo- naczyniowego(50% vs 29,14%).

Grupa chorych, u których w czasie obserwacji rozpoznano chorobę wieńcową była istotnie starsza (50 ± 6 vs 44 ± 8), miała wyższy wskaźnik BMI (28 ± 6 vs 27 ± 5) i WHR($0,94 \pm 0,06$ vs $0,92 \pm 0,1$), wyższy poziom cholesterolu całkowitego (244 ± 49 vs 226 ± 47 mg%), znamienne wyższe ciśnienie skurczowe (SBP 143 ± 26 vs 131 ± 19 mmHg), rozkurczowe (DBP 89 ± 14 vs 83 ± 11 mmHg). Ponadto istotnie częściej obserwowano wśród osób z chorobą wieńcową rozpoznane nadciśnienie tętnicze (64,91 vs 47,15%) oraz dodatni wywiad rodzinny w kierunku chorób układu sercowo- naczyniowego(53,57 vs 27,29%).

6.2. Polimorfizm *I/D ACE*

Polimorfizm *I/D ACE* jest najprawdopodobniej najczęściej badanym potencjalnym genetycznym markerem chorób układu sercowo-naczyniowego od czasu pionierskiej publikacji Cambiena i wsp. z 1992 roku, którzy pierwsi donieśli o związku genotypu *DD* z przebyłym zawałem mięśnia sercowego (121). Przez wielu badaczy uważany jest za szczególnie atrakcyjny jako potencjalny marker genetyczny ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego. Przesłanką przemawiającą za takim wyborem jest dobrze udokumentowany związek tego polimorfizmu ze stężeniem i aktywnością enzymu konwertującego w płynach i tkankach ustroju (122,123,124,125).

W badanej przeze mnie grupie allel *D* występował z podobną częstością 0.52, jak w większości publikowanych prac dotyczących pacjentów populacji rasy kaukaskiej z chorobą wieńcową (0.50-0.63) oraz rzadziej niż w badaniu Trzeciaka i wsp., którzy wykazali częstość występowania allelu *D* 0.58 w grupie 75 chorych leczonych w Akademii Medycznej w Poznaniu (14, 126)

Podobne częstości występowania od uzyskanych przeze mnie częstości genotypów i alleli polimorfizmu *I/D ACE* opisali Agerholm-Larsen i wsp. w grupie 699 mężczyzn, mieszkańców Dani, z angiograficznie potwierdzoną istotną miażdżycą tętnic wieńcowych (*D*-0.51, *DD*-27%, *ID*-49% i *II*-24%) (68)

Stosunkowo duże zróżnicowanie częstości występowania poszczególnych alleli w różnych publikacjach może wynikać z odmiennych kryteriów doboru pacjentów (np. wyselekcjonowani chorzy z potwierdzonym angiograficznie istotnym zwężeniem przynajmniej jednej tętnicy wieńcowej we wspomnianych powyżej publikacjach). Innym powodem takich rozbieżności może być niestosowanie metod specyficznej amplifikacji allela *I* w dawniejszych pracach i związane z tym niedoszacowanie częstości heterozygot *ID* na korzyść homozygot *DD*. Zjawisko takie przyczynia się preferencyjnego namnażania fragmentów krótszych (allel *D*) w czasie reakcji PCR (128)

W badanych grupach obserwowano rzadsze występowanie genotypu *DD* polimorfizmu *I/D ACE* w grupie chorych zmarłych ze wszystkich przyczyn w porównaniu do pacjentów, którzy przeżyli okres obserwacji (17% vs 28%). Iloraz szans zgonu dla modelu recesywnego (*DD* vs *ID+II*) wyniósł 0,39, lecz nie osiągnął znamienności statystycznej 0.39(95%CI 0.33-0.46), $p=0.21$ (tab. 12). Nie odbiega to od wyników prac innych autorów (Samani'ego i wsp(129)., Heijmansa i wsp(130)) którzy w badaniach

prospektywnych nie stwierdzili istotnego statystycznie związku między śmiertelnością a genotypem *I/D ACE*. Przy analizie grupy chorych zmarłych z powodów sercowo-naczyniowych odsetek częstości występowania genotypu DD polimorfizmu *I/D ACE* jest jeszcze niższy (12% vs 28% w grupie chorych, którzy przeżyli). Iloraz szans zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych dla modelu recesywnego wyniósł 0.37, również bez znamienności statystycznej (95%CI 0.05-3.04), $p=0.35$ (tab. 13). Natomiast zaskakujące jest to, że znamienność statystyczną uzyskano analizując częstość zgonów sercowo-naczyniowych dla genotypu II polimorfizmu *I/D ACE* (OR DD+ID vs. II 0.18 (95%CI 0.04-0.77), $p=0.02$). W literaturze nie znaleziono danych potwierdzających tego rodzaju związek.

Odmienne przedstawia się sytuacja w grupie osób z przebyłym w okresie obserwacji zawałem serca. Genotyp DD występował częściej u chorych z przebyłym zawałem w porównaniu z osobami bez zawału (34% vs 29%). Iloraz szans zawału mięśnia sercowego dla modelu recesywnego wyniósł 0.76, bez znamienności statystycznej (95%CI 0.34-1.67).

W doniesieniu Cambiena i wsp. iloraz szans przebytego zawału mięśnia sercowego dla modelu recesywnego (*DD* vs *ID+II*) wyniósł, w zależności od regionu geograficznego, od 1.1 do 2.1 oraz 1.34 w całej grupie (121)

Publikacja Cambiena i wsp. zapoczątkowała rosnące zainteresowanie wielu badaczy potencjalnym znaczeniem polimorfizmu *I/D ACE* w schorzeniach układu sercowo-naczyniowego. Wyniki badań publikowane w ostatnich latach przynosiły sprzeczne wyniki. W piśmiennictwie przedmiotu istnieją co najmniej trzy metaanalizy potwierdzające związek polimorfizmu *I/D ACE* z zawałem mięśnia sercowego [129, 69,132). Warto jednak podkreślić krytyczne spostrzeżenia niektórych autorów dostrzegających zależność wyników poszczególnych badań od składu etnicznego populacji poddanej badaniom. Powtarzającym się zarzutem jest również stosunkowo mała liczebność poszczególnych przebadanych kohort, choć liczebność ogólna jest znacząca (np. Samani i wsp. 3394 chorych i 5479 osób kontroli, Ageholm-Larsena i wsp. 4192 chorych i 14472 osób kontroli).

Uzyskane przeze mnie wyniki wskazują na częstsze występowanie genotypu DD u chorych z przebyłym zawałem w porównaniu z osobami bez zawału (34% vs 29%). Iloraz szans zawału mięśnia sercowego dla modelu recesywnego wyniósł 0.76,

bez znamienności statystycznej (95%CI 0.34-1.67). Wynik ten różni się od OR przebytego zawału w metaanalizie Samaniego i wsp.(129), gdzie dla wszystkich analizowanych badań wynosiło ono 1.26, z dużym zróżnicowaniem dla poszczególnych populacji: dla kaukaskiej i japońskiej odpowiednio 1.18 i 2.55. Metaanaliza Ageholm-Larsena i wsp. (132) również potwierdza związek genotypu DD z przebyłym zawałem mięśnia sercowego (OR 1.21 dla wszystkich analizowanych populacji (95%CI 1.11-1.32)), ale wynik ten jest wydaje się być raczej skutkiem włączenia do analizy małych liczebnie kohort. Przemawia za tym fakt, iż iloraz szans dla małych grup był znacząco większy 1.47 (95%CI 1.30-1.66), zaś dla większych liczebnie badań nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności (OR 0.99 (95%CI 0.88-1.12))

Istotne rozbieżności w publikowanych wynikach badań genetycznych mogą wynikać z kilku przesłanek. Staessen i wsp. (130) w swojej metaanalizie zwracają uwagę na niski impact factor pism, w których były publikowane poszczególne prace. Ponadto należy pamiętać, że najczęściej publikuje się pozytywne wyniki analiz genetycznych, szczególnie, gdy dotyczą one mniejszych grup badanych (publication bias). Ważną kwestią metodologiczną opisaną przez Shanmugama i wsp.(128) jest zjawisko preferencyjnego namnażania krótszych fragmentów DNA w trakcie reakcji PCR, które prowadzi do błędnego oznaczenia od 4 do 5% heterozygot *ID* jako homozygoty *DD*. Może to powodować zaniżanie częstości występowania allelu *D*. W kontekście uzyskanych przeze mnie wyników trzeba zaznaczyć, że dla uniknięcia takiego problemu użyto opisaną przez Lindpaintnera i wsp. metodę specyficjnej amplifikacji allela *I* (101).

Warto zauważyć, że w uzyskanych przeze mnie wynikach negatywna tendencja opisująca związek genotypu DD z wystąpieniem zawału mięśnia sercowego staje się coraz mniej wyraźna przy wspólnej analizie chorych z przebyłym zawałem mięśnia sercowego z osobami zmarłymi z powodów sercowo- naczyniowych (OR 0.91(95%CI 0.4-2.1) oraz osób z przebyłym poważnym incydem sercowo- naczyniowym(zgon sercowo- naczyniowy, zawał serca, rozpoznana choroba wieńcowa (OR 0.94(95%CI 0.52-1.68) (oba ilorazy szans bez znamienności statystycznej; p odpowiednio 0,83 oraz 0,82).

Mówiąc o braku zależności między genotypem *DD* z zawałem mięśnia sercowego nie sposób nie wspomnieć o jednym z najistotniejszych- z uwagi na swój prospektywny charakter- badań. Analiza opublikowana przez Lindpaintnera i wsp (387 przypadków zawału serca i 1475 osób kontroli w populacji lekarzy amerykańskich) (101) opisuje wspomniany brak znamiennego związku OR 1.09 (95%CI 0.85-1.38, p=0.5)

zarówno w całej badanej populacji, jak i w podgrupie małego ryzyka chorób sercowo-naczyniowych OR (95%CI 0.62-1.51, p=0.87). Wadą badania jest bezspornie mała reprezentatywność analizowanej grupy. Należy liczyć się z tym, że lekarze amerykańscy modyfikują styl życia częściej i skuteczniej niż reszta populacji (aktywność fizyczna, dieta, zaniechanie palenia, stosowanie kwasu acetylosalicylowy oraz statyn w profilaktyce pierwotnej), co może znacząco wpływać na zmniejszenie niekorzystnego wpływu polimorfizmu ACE.

Tab. 47. Ryzyko zawału serca związane z polimorfizmem genu konwertazy angiotensyny (I/D ACE)

Ryzyko zawału serca związane z polimorfizmem insercyjno- delecyjnym genu konwertazy angiotensyny (I/D ACE) (133)	
badanie	Iloraz szans zawału serca DD vs. ID+II
Cambien i wsp. ECTIM STUDY 1992	1,34,p<0,007
Lindpaintner i wsp. Physicians` Health Study 1995	1,09(95%CI: 0,85-1,38, p=0,31
Samani i wsp. metaanaliza 1996	1,26(95%CI: 1,15-1,39, p<0,0001
Staessen i wsp. metaanaliza 1997	1,43(95%CI: 1,28-1,59, p<0,001
Agerholm-Larsen i wsp. metaanaliza 2000	1,21(95%CI: 1,11-1,32
Keavney i wsp. ISIS STUDY 2000	1,10(95%CI: 1,00-1,21, p<0,001
Ciećwierz i wsp. 2000 (populacja polska)	1,02(95%CI: 0,70-1,49, p=0,92

Istnieje wiele przesłanek wymienionych we wstępie niniejszej pracy sugerujących istotny udział RAA w patogenezie miażdżycy tętnic. Większość badań poświęconych roli wariantów polimorficznych genów RAA dotyczy miażdżycy tętnic wieńcowych i genu *ACE*.

Metaanaliza opublikowana przez Agerholm-Larsena i wsp. (69) obejmująca między innymi duże grupy chorych z miażdżycą tętnic wieńcowych potwierdzoną badaniem angiograficznym (6573 chorych i 15303 osób w grupie kontrolnej) wykazała niewielki, lecz istotny wzrost ryzyka choroby wieńcowej związany z obecnością genotypu *DD ACE* (iloraz szans OR 1.16, 95%CI 1.08-1.25). Pozostaje aktualne w odniesieniu również do tej publikacji zastrzeżenie, iż interpretacja wyników powinna uwzględniać fakt włączenia do analizy małych liczebnie grup (Beohar i wsp. 182 chorych i 338 osób kontroli (132), Arbustrini i wsp. 149 chorych i 290 kontroli (133), Sigusch i wsp. 194 chorych i 96 osób kontroli (134) oraz Wang i wsp. 550 chorych i 394 osób kontroli (135). Zaznaczyć należy również różne kryteria rozpoznania choroby wieńcowej funkcjonujące w poszczególnych badaniach objętych metaanalizą, co w praktyce oznacza, że ocena angiograficzna naczyń wieńcowych nie była uwzględniona we wszystkich publikacjach.

Odmienne wyniki od powyżej przytoczonych, a zbieżne z obserwacjami z mojej pracy uzyskano w badaniach na bardziej liczebnych grupach (Pfohl i wsp. (71) 956 chorych i 345 osób kontroli, Angerholm-Larsen i wsp. (68) 947 chorych i 9203 osób kontroli, Jeunemaitre i wsp. (70) 463 chorych). Nigdzie nie wykazano istotnego związku polimorfizmu *I/D ACE* z występowaniem choroby wieńcowej. Angiograficzna ocena naczyń wieńcowych w odniesieniu do wszystkich chorych umożliwiła również sformułowanie wniosku o braku zależności między polimorfizmem *I/D ACE* a zaawansowaniem miażdżycy.

Wspomniani wcześniej Lindpaintner i wsp., w obserwowanej grupie 3590 lekarzy amerykańskich również nie zaobserwowali zwiększonego ryzyka wystąpienia choroby wieńcowej, ani w postaci stabilnej, ani w postaci zawału serca czy też potrzeby rewaskularyzacji mięśnia sercowego, związanego z obecnością genotypu *DD ACE* (101). W tym prospektywnym badaniu, podobnie jak w mojej pracy nie wymagano kryterium angiograficznego potwierdzenia choroby wieńcowej.

Fakt, że prawdopodobieństwo wystąpienia określonej choroby jest większe u osób, których krewni zostali nią dotknięci jest zgodny nie tylko z potocznym

przekonaniem wynikającym z wieloletnich obserwacjach, jak również z wiedzą naukową opartą na dobrze udokumentowanych badaniach. Wynika to oczywiście w głównej mierze z przekazywania następnym pokoleniom genów sprzyjających rozwojowi choroby, co najlepiej ilustrują przytoczone przeze mnie we wstępie przykłady chorób związanych z mutacją jednego genu. W wypadku chorób o wielogenowym charakterze z uwagi na interakcje między genami oraz interakcje między środowiskiem a genami sytuacja jest bardziej skomplikowana. W badanej przeze mnie kohorcie wśród osób z dodatnim wywiadem rodzinnym genotyp DD występował rzadziej niż wśród osób bez krewnych pierwszego stopnia z chorobą niedokrwienną serca (27 % vs. 30%). Nie stwierdzono również istotnego związku pozytywnego wywiadu rodzinnego w kierunku choroby niedokrwiennej serca z genotypem DD polimorfizmu *I/D ACE* 0,89 (95%CI 0.59-1.34), $p=0.56$ (tab.21). Odmienne wyniki uzyskali Badenhop i wsp., opisujący znamienne częstsze występowanie genotypu DD wśród wnuków osób cierpiących lub zmarłych z powodu choroby niedokrwiennej serca. (136). Analiza Badenhopa i wsp. miała charakter retrospektywny, toteż nie znamy genotypów osób zmarłych przed rozpoczęciem badania. Rodzi się uzasadnione pytanie, czy zgony tych osób, nie spowodowały wyeliminowania z puli genetycznej analizowanej populacji określonej grupy genów. Mogłoby to tłumaczyć większą częstość genotypu DD w populacji badanych dzieci i jednocześnie zniknięcie takiej dysproporcji w populacji dorosłych na skutek potencjalnie związanej z tym genotypem zwiększonej śmiertelności z powodów sercowo- naczyniowych. Wśród badaczy tematu są zwolennicy tezy, tłumaczącej obserwowany w niektórych badaniach brak korelacji genotypu DD ze zwiększonym ryzykiem sercowo- naczyniowym, faktem wcześniejszej eliminacji genu D z puli genetycznej na skutek zwiększonej śmiertelności nosicieli tego genu. Warto zaznaczyć, że podobne zjawisko opisano już dla populacji chorych z nadciśnieniem tętniczym (Morris i wsp.)(137). Przemawiają za tym również wyniki badań autopsyjnych, opublikowanych przez Evans`a i wsp., z których wynika, że genotyp *DD* i *ID* występuje znamienne częściej wśród osób zmarłych z powodu choroby niedokrwiennej serca(138).Odbiega to od uzyskanego przeze mnie wyniku sugerującego związek między występowaniem allelu I a częstością zgonów z przyczyn sercowo- naczyniowych (iloraz szans OR *DD+ID* vs. *II* 0.18 (95%CI 0.04-0.77), wynik znamieny statystycznie $p=0.02$). Ten zaskakujący wynik jest bardzo trudny do wyjaśnienia w świetle dostępnych publikacji i mimo znamienności statystycznej możliwe, że kluczową kwestią jest niska liczebność chorych z genotypem DD (jedna osoba zmarła z przyczyn sercowo- naczyniowych) oraz zbyt krótki czas obserwacji kohorty. Brak podobnych danych w

piśmiennictwie oraz brak racjonalnych przesłanek patofizjologicznych skłania mnie do uznania powyższej znamienności za przypadkowe znalezisko statystyczne.

Złożoności sytuacji dopełnia fakt, że inni badacze nie obserwowali różnic w częstości występowania genotypu DD w zależności od wieku. Ważną publikacją negującą tego rodzaju zależność jest doniesienie Agerholm-Larsen i wsp. poświęcone analizie dużej grupy 947 chorych z chorobą niedokrwienna serca oraz 9203 osób z grupy kontrolnej. (69)

Przeważająca większość opublikowanych wyników badań, podobnie jak uzyskane wyniki własne (tab.43), nie stwierdza związku polimorfizmu *I/D* genu *ACE* z częstością i natężeniem występowania podstawowych czynników rozwoju miażdżycy. Przykładem jednej z nielicznych publikacji opisującej związek genotypu *ACE* z pewnymi czynnikami ryzyka, jest doniesienie Berge'a i wsp. (139) o obserwowanym istotnym związku podwyższonego stężenia lipoproteiny (a) z allelem *D*.

W kontekście rozważań na temat roli polimorfizmu *I/D* *ACE* w patogenezie procesów miażdżycowych warto wspomnieć o sprzecznych doniesieniach dotyczących badań genetycznego tła restenozy w naczyniach wieńcowych po zabiegach angioplastyki. Z jednej strony przypisuje się genotypowi DD wzrost ryzyka restenozy po zabiegach elektywnej angioplastyki naczyń wieńcowych z implantacją stentów (badania Amanta i wsp. (140) i Ribichini'ego i wsp. (141). Ohishi i wsp. (142) uzyskali wyniki potwierdzające wzrost ryzyka nawrotu zwężenia po pierwotnej angioplastyce wykonanej w ostrej fazie zawału mięśnia sercowego u chorych z genotypem DD. Badania pacjentów z restenozą po przebytych zabiegu PTCA bez użycia stentu przyniosły odmienne wyniki: żadna z grup badaczy (Hamon i wsp (143-145), Bockxmeer i wsp (146) Samani i wsp. (147) oraz Haberbosch i wsp. (148) nie wykazała związku polimorfizmu *I/D* *ACE* z restenożą. Również Koch i wsp. nie wykazali takiego związku w grupie 1850 pacjentów, u których w rok po zabiegu przezskórnej angioplastyki wieńcowej w kontrolnej koronarografii wykryto nawrót zwężenia w naczyniu poddanym uprzednio zabiegowi.

Próby wyjaśnienia tak istotnych sprzeczności opierają się głównie przywoływaniu odmiennych patomechanizmów restenozy po angioplastyce balonowej oraz po implantacji stentów. Uważa się, że w nawrocie zwężenia po klasycznym zabiegu angioplastyki balonowej dominuje proces patologicznego remodelingu opartego o intensywny rozplętk tkanki łącznej oraz stwardnienie ściany tętnicy, zaś w restenozie po

zabiegu stentowania przeważa proliferacja i migracja komórek mięśni gładkich do błony wewnętrznej tętnicy. Zważywszy na fakt, że angiotensyna II może potencjalnie stymulować rozplam miocytów oraz proces ich przemieszczania się z błony środkowej tętnicy do błony wewnętrznej oraz stymulować wzrost syntezy białek substancji podstawowej tkanki łącznej, możemy założyć, że proces restenozy po stentowaniu jest znacząco bardziej związany z aktywnością układu RAA niż przebudowa ściany naczynia po angioplastyce balonowej czy odkładanie się blaszek miażdżycowych w świetle tętnicy (149,150).

6.3. Polimorfizm *A1166C* genu *AT1R*

W badanej grupie 643 (brak danych dla 48 pacjentów) chorych stwierdzono częstości alleli C- 0.26, A 0.74, co oznacza podobne proporcje do większości publikacji dotyczących populacji rasy kaukaskiej. Rozkład częstości genotypów polimorfizmu *A1166C* genu receptora *AT1*: CC-7%, AC-37% i AA-56%, oznaczał częstsze niż zazwyczaj opisywane występowanie homozygoty AA, kosztem częstości występowania heterozygot. Należy jednak dodać, że dostępne publikacje dotyczą na ogół grup chorych z chorobą wieńcową, zaś w kohorcie analizowanej przeze mnie w niniejszym opracowaniu dominują osoby, u których w czasie obserwacji nie zdiagnozowano chorób układu sercowo- naczyniowego.

Relatywnie niewielka ilość dostępnych w literaturze wyników badań nad rolą polimorfizmu *A1166C* *AT1R* w patogenezie chorób układu sercowo- naczyniowego wynika prawdopodobnie z wciąż niepełnej wiedzy na temat potencjalnego wpływu tego polimorfizmu na działanie receptora *AT1*. Nie potwierdzono hipotezy wiążącej allel C z zaburzeniami w regulacji gęstości receptora *AT1* w dół (down regulation) w warunkach aktywacji układu RAA czyli przy wysokim stężeniu angiotensyny II (Tiret i wsp.). (73) Większość badaczy- a trzeba podkreślić, że dostępne są jedynie wyniki badań na stosunkowo mało licznych grupach- koncentrowała się na ewentualnym wpływie polimorfizmu *A1166C* na reaktywność naczyń tętniczych. Przykładowo van Geel i wsp. (151) opisali wzmożoną reakcję skurczową na stymulację angiotensyną II fragmentów tętnic piersiowych wewnętrznych, pobranych od chorych z genotypem CC w trakcie elektrycznych zabiegów CABG. Podobne wyniki w odniesieniu do reaktywności tętnic wieńcowych poddawanych działaniu epinefryny uzyskali dla genotypu CC Henrion i wsp. (152). Warto podkreślić, że badania reaktywności naczyń wieńcowych u osób bez istotnych klinicznie zmian w obrazie angiograficznym również wskazywały na związek

genotypu CC z tendencją do większej kurczliwości naczyń. Zależność taką opisali Amant i wsp. poddając dystalne odcinki naczyń wieńcowych działaniu maleinianu metyloergonowiny (153). W tym samym badaniu nie wykazano związku między reaktywnością naczyń a poszczególnymi wariantami polimorficznymi *I/D* genu *ACE*.

Z uwagi na relatywnie niską częstość występowania w populacji genotypu CC, w publikacjach dominuje tendencja do analizy opartej na modelu recesywnym *CC+AC* vs *AA*. W badanej przeze mnie grupie nie stwierdziłem związku pomiędzy polimorfizmem *A1166C AT1R* a zgonem ani przebyłym zawałem mięśnia sercowego. Iloraz szans zgonu oraz zawału mięśnia sercowego dla takiego modelu wyniósł w mojej pracy odpowiednio: OR 0.98 (95%CI 0.45-2.11), $p=0.96$ oraz OR 0.50 (95%CI 0.07-3.85), $p=0.5$ (tab.22 i 23). Zarówno w przypadku osób zmarłych w czasie obserwacji, jak i tych, którzy przeżyli zawał serca zaobserwowałem nawet rzadsze występowanie genotypu CC (4% vs 7% w obydwu analizach (tab. 22 i 23), jednak wynik ten nie jest statystycznie istotny, głównie z uwagi na relatywnie niewielką ilość zgonów i zawałów serca oraz- co wydaje się nawet istotniejsze- niską liczebność grupy z incydem i genotypem CC (1 osoba!). Brak związku między genotypem *A1166C AT1R* a zawałem mięśnia sercowego jest zgodny z obserwacjami Keavneya i wsp.(154), którzy w analizie obejmującej dużą grupę 4486 chorych po przebyłym zawałe serca oraz 5759 zdrowych osób nie wykryli częstszego występowania genotypu CC wśród chorych z przebyłym zawałem. Podobne wyniki uzyskali Jeunemaitre i wsp. (70), badający mniejszą grupę 463 pacjentów z chorobą wieńcową potwierdzoną angiograficznie również nie wykazali zależności między genotypem *A1166C AT1R* a przebyłym zawałem serca. Wyjątkiem jest publikacja Berge i wsp. (155), opisująca częstsze występowanie genotypu CC u osób z przebyłym zawałem serca. Co ciekawe, zależność ta bardziej nasiloną wśród chorych z niskim BMI oraz niskim poziomem apoB, a więc potencjalnie niższym ryzykiem chorób sercowo- naczyniowych.

Analizując potencjalny związek polimorfizmu *A1166C AT1R* z częstością występowania choroby wieńcowej, dodatnim wywiadem rodzinnym oraz częstością występowania złożonego punktu końcowego w postaci poważnego incydemu sercowo- naczyniowego nie zaobserwowałem istotnych statystycznie różnic w występowaniu genotypu CC. Rozmija się to z rezultatami badań Jeunemaitre i wsp., którzy po przeanalizowaniu 463 koronarografii, wykazali nieistotną tendencję do częstszego występowania allelu *C* w grupie chorych z bardziej zaawansowaną miażdżycą (70). Zważywszy na brak istotności statystycznej oraz brak potwierdzenia w innych

publikacjach, nie wydaje się to jednak wystarczającą przesłanką do przyjęcia możliwego wpływu polimorfizmu *A1166CATIR* na częstość występowania miażdżycy tętnic wieńcowych.

Dodać należy, że w literaturze brak jest publikacji opisujących potencjalną zależność między polimorfizmem *A1166C ATIR* a rodzinnym występowaniem choroby wieńcowej czy tendencją do występowania przedwczesnej choroby wieńcowej. W kontekście badania genetycznego tła chorób sercowo- naczyniowych analiza tych parametrów wydawała mi się niezbędna do pełniejszej analizy tematu i zarazem badawczo niezwykle obiecująca. Zarówno częstsze występowanie rodzinne, jak i wcześniejsza manifestacja chorób układu sercowo- naczyniowego byłyby silną przesłanką przemawiającą za dużą rolą czynników genetycznych w patogenezie tej grupy schorzeń. W badanej populacji nie obserwowano powyższej zależności, co może odzwierciedlać faktyczny stan rzeczy, ale może również wynikać ze stosunkowo małej liczebności analizowanej kohorty oraz relatywnie niedługiego czasu obserwacji. Pamiętać należy, że przy wieloczynnikowym i wielogenowym charakterze chorób układu sercowo- naczyniowego, udokumentowanie wpływu określonego genu wymaga prawdopodobnie objęcia badaniem dużych wielotysięcznych populacji. Stosunkowo powolny, wieloletni rozwój chorób układu sercowo- naczyniowego stawia przed badaczem wyzwanie w postaci potrzeby adekwatnie długiego okresu obserwacji badanej populacji.

Wśród badanych chorych, podobnie jak w innych publikacjach, nie stwierdzono istotnego związku pomiędzy wariantami polimorficznymi genu *ATIR*) a podstawowymi czynnikami ryzyka sercowo- naczyniowego (tab.44).

6.4. Polimorfizm *Sca1 A1/A2* genu *ANP*

Zdecydowana większość dotychczas opublikowanych doniesień naukowych oceniających potencjalne znaczenie polimorfizmu *Scal* genu *ANP* koncentrowała się na ewentualnej roli przedsiorkowego czynnika natriuretycznego w etiologii nadciśnienia tętniczego. Wynikało to przesłanek patofizjologicznych, z eksperymentalnie potwierdzonych silnych właściwości natriuretycznych, diuretycznych i wazodylatacyjnych *ANP*(77). Będąca dla innych badaczy punktem odniesienia praca Rutledge i wsp. (78) opisywała istotny statystycznie związek między częstością występowania nadciśnienia sodowrażliwego a obecnością allele *A1* polimorfizmu *Scal* genu *ANP*. Zaznaczyć należy,

że obserwacja dotyczyła wyłącznie Afroamerykanów, co potwierdzili zresztą inni badacze porównujący częstość występowania poszczególnych wariantów polimorficznych genu ANP z nadciśnieniem tętniczym w populacjach o różnorodnym składzie etnicznym. Podobne wyniki uzyskali Chiang i wsp. (156), Schorr i wsp. (157) oraz Barley i wsp. (158).

W kohorcie będącej przedmiotem mojego zainteresowania nie stwierdziłem związku allela A1 z nadciśnieniem tętniczym (tab.46). Brak takiego związku większość badaczy wyjaśnia na ogół relatywnie niskim odsetkiem występowania nadciśnienia sodowrażliwego w populacjach innych niż afrykańska.

Istnieją również dobrze udokumentowane dowody na związek polimorfizmu *Scal* genu *ANP* z pierwotną kardiomiopatią zastoinową i przerostową. Richter i wsp. opisali istotnie częstsze występowanie genotypu *A2A2* wśród chorych z pierwotną kardiomiopatią przerostową, których charakteryzowała klinicznie bardziej zaawansowana postać niewydolności serca oceniana wg skali New York Heart Association (159). W innej publikacji ta sama grupa badaczy wykazała istotny związek allelu *A2* ze zwiększonym wymiarem lewej komory oraz istotnie częstszym występowaniem nadkomorowych zaburzeń rytmu wśród chorych z objawową kardiomiopatią zastoinową (160).

Istnieje wiele przesłanek eksperymentalnych przemawiających za zasadnością badań nad potencjalnym związkiem polimorfizmu *Scal* genu *ANP* z chorobami układu sercowo- naczyniowego, ze szczególnym uwzględnieniem choroby wieńcowej. Znany jest fakt zwiększonego wydzielania ANP w wyniku niedokrwienia mięśnia sercowego zarówno w przebiegu niestabilnej choroby wieńcowej, świeżego zawału serca, jak i w przebiegu zabiegu balonowej angioplastyki wieńcowej, przy czym poziom sekrecji jest zależny od czasu trwania niedokrwienia oraz rozległości uszkodzenia lewej komory. Na szczególną uwagę w kontekście potencjalnego wpływu na patogenezę chorób układu sercowo- naczyniowego zasługuje opisane we wstępie wazodylatacyjne działania ANP, zarówno w mechanizmie bezpośrednim, jak i poprzez antagonistyczny wpływ na poszczególne ogniwa układu RAA i synergizm z naczynioaktywnymi substancjami produkowanymi przez śródbłonek. Również dobrze udokumentowane ośrodkowe działania sympatykolytyczne oraz antyproliferacyjne w odniesieniu do komórek układu immunologicznego i mięśni gładkich ściany naczyniowej stanowią istotną przesłankę przemawiającą za przeanalizowaniem związku między polimorfizmem *Scal*

genu *ANP* a incydentami sercowo- naczyniowymi w obserwowanej populacji. (79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 161, 162)

W badanej przeze mnie kohorcie nie obserwowałem istotnego związku między częstością występowania genotypu *A2A2* a częstością zgonów(w tym również częstością zgonów z przyczyn sercowo- naczyniowych), ilością zawałów serca czy częstością występowania choroby niedokrwiennej serca. Również łączna analiza złożonych punktów końcowych (tj. zgon lub przeżyty zawał serca OR 0.81 (95%CI 0.59-2.62), $p=0.79$ oraz zgon, przeżyty zawał serca lub rozpoznana choroba wieńcowa OR 0.89 (95%CI 0.55-1.44), $p=0.64$) nie wykazała zależności tych incydentów od genotypu *A2A2*.

W mojej pracy nie wykazałem zależności między genotypem polimorfizmu *Scal ANP* a wywiadem rodzinnego występowania choroby niedokrwiennej serca (tab.35). Odnotować należy trudny do wyjaśnienia fakt, że nieistotnie częściej, ale blisko znamienności statystycznej ($p=0.06$) obserwowano genotyp *A1A1* polimorfizmu *Scal ANP* w grupie chorych z rozpoznaną przedwcześnie chorobą wieńcową (tab.34). Współczynnik ryzyka względnego dla modelu dominującego (*A1A1* vs *A1A2+A2A2*) wyniósł OR 2.6 (95%CI 0.94-7.20). W literaturze brak jest danych dotyczących związku tego polimorfizmu rodzinnym występowaniem choroby niedokrwiennej serca.

W zakresie podstawowych czynników ryzyka odnotować należy znamienne wyższy średni poziom glikemii wśród osób z genotypem *A1A1* ($p=0,01$), przy braku różnic w częstości występowania cukrzycy wśród osób z różnymi wariantami analizowanego genotypu. W tym wypadku również brak publikacji na temat ewentualnych związków wariantów genotypu polimorfizmu *Scal ANP* a potencjalnym wpływem na wartości glikemii utrudnia interpretację tego wyniku. Nie obserwowano innych istotnych różnic w zakresie podstawowych czynników ryzyka (tab. 45)

Omawiając powyższe wyniki podkreślić należy, że ich interpretacja jest szczególnie trudna z uwagi brak badań dotyczących ekspresji polimorfizmu *Scal* genu *ANP* u człowieka. Zważywszy na fakt, że nie mamy bezpośrednich dowodów na to, że różnice na poziomie DNA oznaczają również zmiany w budowie, a przede wszystkim w funkcji ANP, możemy posługiwać się jedynie ekstrapolacją rezultatów badania modelu zwierzęcego. U szczurów, u których występuje analogiczny polimorfizm, allel *A1* oznacza wydłużenie ANP a dwie argininy(77).U podłoża funkcjonującej w literaturze hipotezy o potencjalnie kardioprotekcyjnym działaniu takiego wariantu ANP leży przesłanka, iż arginina jest substratem dla syntezy tlenu azotu, ten zaś ma wpływ zarówno na napięcie ściany tętnicy

jak i na czynność śródbłonna. Dane uzyskane w mojej pracy nie dają podstaw do ustosunkowania się do takiej hipotezy.

6.5. Polimorfizm Leu33/Pro genu glikoproteiny płytkowej IIIa (PIA1/PIA2 GPIIIa)

W świetle obecnego stanu wiedzy rola receptora płytkowego IIb/IIIa w dynamice procesów adhezji i agregacji płytek w procesie tworzenia zakrzepu płytkowego jest dobrze udokumentowana i stanowi jeden z elementów naszego rozumienia patogenezy ostrej postaci choroby wieńcowej: niestabilnej dławicy i zawału mięśnia sercowego(163).

Pierwszym doniesieniem opisującym związek allelu *PIA2* polimorfizmu *PIA1/PIA2 glikoproteiny płytkowej GPIIIa* z niestabilną chorobą wieńcową i zawałem serca była publikacja Weiss'a i wsp. (103). Praca opisuje stosunkowo niedużą grupę 71 pacjentów z ostrymi postaciami choroby wieńcowej, która w porównaniu z grupą kontrolną charakteryzuje się istotnie wyższym ilorazem szans wystąpienia ostrego incydentu wieńcowego (dla modelu *PIA2A2+PIA1A2* vs *PIA1A1* OR 2.8 (95%CI 1.2-6.4, $p<0.01$). Tendencja ta była znacznie bardziej wyraźna dla osób poniżej 60 r.ż.(iloraz szans OR 6.2 (95%CI 1.8-22.4, $p<0.002$) Częstości genotypów oraz alleli polimorfizmu *PIA1/PIA2 GPIIIa* występujące w badanej przez mnie kohorcie były inne niż oczekiwane dla naszej szerokości geograficznej na podstawie wyników uzyskanych przez innych autorów badających populacje rasy kaukaskiej. W publikowanych pracach można spotkać dużą rozpiętość wartości opisujących częstość występowania poszczególnych alleli polimorfizmu *PIA1/PIA2 GPIIIa*: od 0.5% wśród rasy żółtej, przez 9% w południowej Europie, 15% w centralnej i 26.5% w populacji północnoeuropejskiej. W badanej przez mnie kohorcie częstość ta wynosiła jedynie 2%. Budzi to zrozumiałe obawy o reprezentatywność badanej grupy.

Jakkolwiek nie uzyskałem wyniku potwierdzającego związek między występowaniem allelu *PIA2* a przeżytym zawałem mięśnia sercowego (tab.37), to na pewno można mówić o pewnej tendencji, która jest zgodna z przytoczonymi powyżej wynikami grupy Weiss'a. Iloraz szans wystąpienia zawału serca OR 2.07 (95%CI 0.94-4.59), przy bliskim znamienności statystycznej $p=0.07$. Z całą pewnością słabą stroną uzyskanych przez mnie wyników i to w odniesieniu do analizy wpływu polimorfizmu *PIA1/PIA2 GPIIIa* na wszystkie oceniane punkty końcowe jest mała liczebność podgrupy homozygot *PIA2A2*(dla większości analiz 1 osoba).

Takiej tendencji nie potwierdził Ridker ze wsp. w swej prospektywnej analizie grupy 1408 lekarzy amerykańskich, w czasie obserwacji zbliżonym do opisanego przeze mnie. (164) Nie zaobserwowano istotnego związku polimorfizmu *PLA1/PLA2 GPIIIa* ani z częstością występowania zawału serca ani udaru mózgowego czy zakrzepicy żylniej. Poszczególne genotypy i allele polimorfizmu *PLA1/PLA2 GPIIIa* występowały z podobną częstością, niezależnie od wieku pacjentów czy stopnia zaawansowania zmian miażdżycowych. Co interesujące, to fakt, że antyagregacyjne działanie kwasu salicylowego, przyjmowanego przewlekle przez niektórych pacjentów również nie miało wpływu na uzyskane wyniki. Brak związku między zawałem m. sercowego a wariantem polimorfizmu *PLA1/PLA2 GPIIIa* opisali również inni autorzy (Gardeman i wsp. (76), Herman i wsp. (165))

Wyniki badań oceniających potencjalny związek polimorfizmu *PLA1/PLA2 GPIIIa* ze stopniem zaawansowania miażdżycy tętnic wieńcowych są również kontrowersyjne i często wzajemnie się wykluczające. W publikacji Gardemana i wsp. (76), nie znajdujemy potwierdzenia związku allelu *PLA2* z wielonaczyniową chorobą wieńcową. Badanie genetyczne konfrontowano z koronarograficzną oceną zaawansowania zmian miażdżycowych u 2252 pacjentów. Dopiero po wyodrębnieniu podgrupy pacjentów z wysokim stopniem zaawansowania miażdżycy oraz niskim BMI <26.9 kg/m² i (lub) wysokim stężeniem Apo AI (>1.43 g/l) uzyskano znamienne częstsze występowanie allelu *PLA2*. W pracy Cartera i wsp. (166) porównującej wyniki koronarografii 405 elektrywnych pacjentów obserwowano istotny związek między występowaniem allelu *PLA2* z wielonaczyniową chorobą wieńcową OR 1.5 (95%CI 1.01-2.26).

W dużym prospektywnym badaniu ARIC w 6-letnim badaniu dużej grupy 15 792 osób również nie obserwowano związku polimorfizmu *PLA1/PLA2 GPIIIa* ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia choroby wieńcowej. W mojej pracy również nie odnotowałem takiej relacji w odniesieniu do osób z rozpoznaną chorobą wieńcową OR 0.72 (95%CI 0.09-5.67), $p=0.75$. Również wśród osób z przedwczesną chorobą wieńcową czy dodatnim wywiadem rodzinnym nie obserwowałem tego rodzaju zależności (odpowiednio: OR 1.44 (95%CI 0.18-11.56), $p=0.73$ oraz OR 0.77 (95%CI 0.21-2.90), $p=0.70$). W dostępnej literaturze brak danych opisujących te kwestie.

Warto przytoczyć wyniki badań analizujących częstość występowania allelu *PLA2* wśród chorych poddanych zabiegowi PTCA. Wśród 100 poddanych zabiegowi, w porównaniu z równie liczną grupą kontrolną obserwowano częstsze występowanie allelu

PLA2 (OR 2.91 (95%CI 1.16-7.33) dla modelu *PLA2A2+PLA1A2* vs *PLA1A* (Garcia-Ribes i wsp.). (67) Wśród młodszych chorych (<60 r. ż.) związek ten był zdecydowanie silniejszy OR 5.93 (95%CI 1.02-34.7). Wątpliwości budzić może jedynie niska liczebność opisanej przez Garcia-Ribes i wsp. grupy i – wtórne do tego- szerokie przedziały ufności przytoczonych ilorazów szans.

Większą grupę chorych poddanych zabiegowi PTCA z implantacją stentu opisali w swej publikacji Kastrati i wsp. (168). Wśród 1150 pacjentów obserwowano związek allelu *PLA2* z większą tendencją do restenozy. Co interesujące, dodatnia relacja zyskiwała na sile statystycznej po wyodrębnieniu kobiet (z częstością restenozy 52% dla genotypu *PLA2A2* lub *PLA1A2* i 33% w grupie homozygot *PLA1A1*).

W zakresie podstawowych czynników ryzyka zaobserwowałem w badanej grupie znamienne wyższy wskaźnik WHR wśród osób z genotypem *PLA1PLA2*. W tym wypadku również brak jest w literaturze danych na temat ewentualnych związków wariantów genotypu polimorfizmu *PLA1PLA2* *GPIIIa* z WHR. Warto wspomnieć, że we wspomnianej już pracy Cartera i wsp. opisano związek *PLA2* z wyższym stężeniem cholesterolu całkowitego, ale tylko w podgrupie mężczyzn poniżej 47 roku życia.

Poza tym nie stwierdzono innych zależności między analizowanym genotypem a podstawowymi czynnikami ryzyka chorób układu sercowo- naczyniowego.

Na podstawie opublikowanych danych oraz wyników własnych wydaje się, że wpływ polimorfizmu *PLA1/PLA2* *GPIIIa* na ryzyko wystąpienia ostrych incydentów wieńcowych jak innych postaci choroby wieńcowej jest trudne do oceny i prawdopodobnie różne w zależności od badanej populacji. Wysoce prawdopodobne jest, że dla ujawnienia się istotnego wpływu tego polimorfizmu konieczna jest interakcja z innymi środowiskowymi i/lub genetycznymi czynnikami.

Znaczenie wariantów polimorficznych pojedynczych genów w determinowaniu pewnych mierzalnych cech układu sercowo-naczyniowego jak np. wysokość ciśnienia tętniczego czy obecność zmian miażdżycowych oraz w klinicznej manifestacji zmian patologicznych jest stosunkowo niewielkie i ujawnia się tylko w wyselekcjonowanych grupach badanych osób. Jest to zgodne z naszą wiedzą o wieloczynnikowym charakterze choroby wieńcowej, gdzie dla ujawnienia się patologii konieczne jest współdziałanie wielu genów, z których każdy wywiera tylko słaby efekt oraz ich interakcja ze środowiskowymi,

niegenetycznymi czynnikami ryzyka. Znaczenie zjawiska wzajemnych interakcji genów podejmują nieliczne, jak dotąd, prace wskazujące na potencjalizację ryzyka zawału serca u osób z współwystępowaniem określonych wariantów polimorficznych. Podłoże genetyczne moduluje odpowiedź organizmu na działanie czynników środowiskowych, jednak przy aktualnym poziomie wiedzy wpływ ten jest często trudny do jednoznacznego i precyzyjnego opisanie. Ta niezwykle złożona sieć wzajemnych zależności wymaga jeszcze wielu właściwie zaprojektowanych oraz trudnych do interpretacji badań. Wiedza uzyskana na ten temat pozwoli nam na bardziej efektywną identyfikację osób o wysokim ryzyku schorzeń układu sercowo-naczyniowego i skuteczniejsze, bo ukierunkowane postępowanie prewencyjne i leczenie. [48,49,50,169-171]

VII. PODSUMOWANIE WYNIKÓW I WNIOSKI

1. Na podstawie wykonanych badań i przeprowadzonych analiz w kohorcie 691 pracowników Portu Gdańskiego potwierdzono znaną wartość prognostyczną klasycznych czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych.
2. Analiza wariantów polimorficznych czterech wybranych genów nie wykazała ich istotnej wartości prognostycznej.
3. Stwierdzenie istotnego związku genotypu *II* polimorfizmu *I/D ACE* z większym ryzykiem zgonu z przyczyn sercowo – naczyniowych wydaje się być jedynie przypadkowym znaleziskiem, będącym wynikiem wykonania bardzo dużej ilości analiz statystycznych.

VIII. STRESZCZENIE

W patogenezie wielu chorób istotną rolę odgrywają nie tylko negatywne czynniki środowiska, ale w dużej mierze również zespół wrodzonych predyspozycji określanych mianem uwarunkowań genetycznych. Dynamiczny rozwój metod badawczych biologii molekularnej umożliwił w ciągu ostatniego ćwierćwiecza poszerzenie możliwości poznawczych poza tradycyjnie stosowane badanie rodzinnego występowania określonego schorzenia oraz badania raz bliźniąt jedno- i dwujajowych. Program GENOME, będący spektakularnym przykładem tego rozwoju, umożliwił poznanie struktury genomu człowieka, otwierając jednocześnie wiele kwestii dotyczących funkcji poszczególnych genów, ich roli w patogenezie poszczególnych chorób oraz złożonych zależności i interakcji między genami.

Racjonalna profilaktyka i leczenie chorób układu sercowo- naczyniowego możliwa jest przy możliwie pełnym poznaniu zarówno środowiskowych jak i genetycznych czynników ryzyka.

Celem przeprowadzonych badań w kohorcie zdrowych pracowników Portu Gdańskiego była ocena związku następujących wariantów polimorficznych:

- 1 insercyjno/delecyjnego genu enzymu konwertującego angiotensynę I (*I/D ACE*),
1. *A1166C* genu receptora dla angiotensyny II typu 1 (*A1166C AT1R*),
2. *Leu33/Pro* glikoproteiny płytkowej *IIIa* (*PLA1/PLA2 GPIIIa*),
3. oraz *T2238C* genu przedsionkowego czynnika natriuretycznego (*ScaI ANP*)

z:

1. częstością zgonów, ze szczególnym uwzględnieniem zgonów sercowo-naczyniowych
2. z przebyłym zawałem mięśnia sercowego,
3. z chorobą wieńcową.

Badania zostały przeprowadzone w grupie 691 kobiet i mężczyzn, pracowników i emerytów Portu Gdańskiego w wieku od 22 do 73 lat (średni wiek 44 ± 9 lat), poddanych rutynowym badaniom okresowym w poradni. Podstawowe dane kliniczne oraz antropometryczne uzyskiwano w czasie badania podmiotowego i przedmiotowego pacjenta. Kryterium wykluczającym z badania była rozpoznana choroba wieńcowa, udar mózgu, przemijające niedokrwienie mózgu lub inne schorzenie miażdżycopodobne. Przebyty w trakcie obserwacji zawał mięśnia sercowego rozpoznawano na podstawie standardowych kryteriów: typowych objawów klinicznych, wzrostu enzymów wskaźnikowych martwicy mięśnia sercowego oraz typowych zmian elektrokardiograficznych. Jako palacza tytoniu określano osobę, która paliła w momencie włączenia do badania lub zaprzestała palenia mniej niż 10 lat wcześniej. Występowanie choroby wieńcowej u krewnego pierwszego stopnia (rodzice, rodzeństwo) uznawano za rodzinne obciążenie chorobą wieńcową.

Badania molekularne wykonywano w Katedrze i Zakładzie Biologii i Genetyki AMG. Materiał stanowiła krew obwodowa pobrana do próbki zawierającej etylenodwuaminocztteroctan (EDTA). Oznaczenia genotypów badanych polimorfizmów wykonywano przy użyciu technik biologii molekularnej.

Na podstawie wykonanych badań i przeprowadzonych analiz w kohorcie 691 pracowników Portu Gdańskiego:

1. potwierdzono znaną wartość prognostyczną klasycznych czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych.
2. analiza wariantów polimorficznych czterech wybranych genów nie wykazała ich istotnej wartości prognostycznej.
3. stwierdzenie istotnego związku genotypu *II* polimorfizmu *I/D ACE* z większym ryzykiem zgonu z przyczyn sercowo – naczyniowych wydaje się być jedynie przypadkowym znaleziskiem, będącym wynikiem wykonania bardzo dużej ilości analiz statystycznych.

Podsumowując, ocena wartości niektórych wariantów polimorficznych badanych genów jako potencjalnych czynników mogących zwiększać ryzyko chorób sercowo-

naczyniowych wymaga przeprowadzenia większych badań populacyjnych o dłuższym okresie obserwacji.

IX. PIŚMIENNICTWO

1. The Atlas of Heart Disease and Stroke, World Health Organisation, 2004
2. Ganz P, Braunwald E: Risk Factors for Atherosclerosis Disease”Braunwald E red. Heart Disease A Textbook of Cardiovascular Medicine. WB Saunders Company, Philadelphia 1997;1010.
3. Zdrojewski T., Bandosz P, Szpakowski P. , Konarski R., Jakubowski Z., Mianikowski A., Wołkiewicz E., Łysiak- Szydłowska W., Bautembach S., Wyrzykowski B. „Rozpowszechnienie głównych czynników ryzyka chorób układu sercowo- naczyniowego w Polsce. Wyniki Badania NATPOL PLUS” Kardiol. Pol. 2004, 61, IV-5
4. Zatonski W.McMichael A., Powles J.,„Ecological study of reasons for sharp decline in mortality from ischaemic heart disease in Poland since 1991”BMJ, vol. 316, 4April,1998, 1047-1051
5. Szostak W, Cybulska B: Narodowy program profilaktyki cholesterolowej po 9 latach na tle rozwoju kardiologii zapobiegawczej w Polsce. List Informacyjny. Narodowy Program Profilaktyki Cholesterolowej 1996;20:7
6. Łaniewska I, Makowiecki KL: Co należy robić aby uniknąć choroby niedokrwiennej serca-prewencja pierwotna. Dłużniewski M red: Choroba Niedokrwienna Serca. Fundacja “Dla Serca”, Warszawa 1998:57-66.
7. Januszewicz W., Kokot F.,„Interna” 2001; 137
8. Farmer JA, Gotto AM: Dyslipidemia and other risk factors for coronary artery disease. Braunwald E red Heart Disease A Textbook of Cardiovascular Medicine. WB Saunders Company, Philadelphia 1997;1126-1160.
9. Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. Circulation 1998;97:1837-47.
10. Neaton JD, Wentworth D. Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. Serum cholesterol, blood pressure, cigarette smoking, and death from coronary heart disease. Overall findings and differences by age for 316,099 white men. Arch Intern Med. 1992;152(1):56-64.
11. Collins R, Peto R, MacMahon S, Hebert P, Fiebach NH, Eberlein KA, Godwin J, Qizilbash N, Taylor JO, Hennekens CH. Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part 2, Short-term reductions in blood pressure: overview of randomised drug trials in their epidemiological context. Lancet. 1990;335(8693):827-38.

12. MacMahon S, Peto R, Cutler J, Collins R, Sorlie P, Neaton J, Abbott R, Godwin J, Dyer A, Stamler J. Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part 1, Prolonged differences in blood pressure: prospective observational studies corrected for the regression dilution bias. *Lancet*. 1990;335(8692):765-74.
13. Prospective Studies Collaboration. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet* 2002;360:1903-1913.
14. Staessen JA, Wang JG, Thijs L. Cardiovascular prevention and blood pressure reduction: a quantitative overview updated until 1 March 2003. *J Hypertens*. 2003;21(6):1055-76.
15. Woodward M, Huxley H, Lam TH, Barzi F, Lawes CM, Ueshima H; Asia Pacific Cohort Studies Collaboration. A comparison of the associations between risk factors and cardiovascular disease in Asia and Australasia. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2005;12(5):484-91.
16. Assmann G, Cullen P, Schulte H. Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on the 10-year follow-up of the prospective cardiovascular Munster (PROCAM) study. *Circulation*. 2002;105(3):310-5.
17. Assmann G, Schulte H, Cullen P. New and classical risk factors - the Munster heart study (PROCAM). *Eur J Med Res*. 1997;2(6):237-42.
18. Thomsen TF, Davidsen M, Ibsen H, Jorgensen T, Jensen G, Borch-Johnsen K. A new method for CHD prediction and prevention based on regional risk scores and randomized clinical trials; PRECARD and the Copenhagen Risk Score. *J Cardiovasc Risk*. 2001;8(5):291-7.
19. Conroy R.M., Pyörälä K., Fitzgerald A.P., Sans S., Menotti A., De Backer G, De Bacquer D., Ducimetière P., Jousilahti P., Keil U., Njølstad I., Oganov R.G., Thomsen T., Tunstall-Pedoe H., Tverdal A., Wedel H., Whincup P., Wilhelmsen L., Graham I.M. on behalf of the SCORE project group. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *Eur. Heart J*. 2003;24:987-1003.
20. *Braunwald*
21. Marian AJ "Pathogenesis of diverse clinical and pathological phenotypes in hypertrophic cardiomyopathy". *Lancet* 355: 58-60, 2000.
22. Friedman JM, Hayden MR, McGillivray: Wzajemne oddziaływanie genetyki i środowiska. *Limon J red: Genetyka*. Urban and Partner, Wrocław 1997:143-164.
23. Nabel G.E., 'Cardiovascular Disease' *N. Engl. J. Med*. 2003; 349:60-72

24. Kane JP., Havel RJ, “ Disorders of the biogenesis and secretion of lipoproteins containing the B apolipoproteins. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D,” *The metabolic and molecular bases of inherited disease*” 8th ed. Vol. 2. New York; McGraw-Hill 2001: 2717-52
25. Berge KE, Tian H, Graf GA i wsp. “ Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters” *Science* 2000; 290:1771-5
26. Garcia CK, Wilund K., Arca M, i wsp. „ Autosomal recessive hypercholesterolemia caused by mutations in a putative LDL receptor adaptor protein” *Science* 2001;292:13948
27. Wilson FH, Disse-Nicodeme S, Choate KA, i wsp. “Human hypertension caused by mutations in WNK kinases” *Science* 2001; 293: 1107-12
28. Lifton RP, Dluhy RG, Powers M, i wsp. “ A chimaeric 11 beta- hydroxylase/ aldosterone synthase gene causes glucocorticoid- remediable aldosteronism and human hypertension” *Nature* 1992; 355: 262-5
29. Lifton RP, Dluhy RG, Powers M, i wsp.” Hereditary hypertension caused by chimaeric gene duplications and ectopic expression of aldosterone synthase” *Nat. Genet.* 1992;2: 66-74
30. Shimkets RA, Warnock DG, Bositis CM, i wsp.” Liddle’s syndrome: heritable human hypertension caused by mutations in the beta subunit of the epithelial sodium channel” *Cell* 1994;79:407-14
31. Hansson JH, Schild L, Lu Y . i wsp.” A de novo missense mutation of the beta subunit of the epithelial sodium channel causes hypertension and Liddle syndrome, identifying a proline- rich segment critical for regulation of channel activity” *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1995; 92: 11495-9
32. Simon DB, Nelson-Williams C, Bia MJ, I wsp.” Gitelman ’s variant of Bartter’s syndrome, inherited hypokalaemic alkalosis, is caused by mutations in the thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter. *Nat Genet* 1996;12:24-30.
33. Simon DB, Karet FE, Hamdan JM, DiPietro A, Sanjad SA, Lifton RP. Bartter ’s syndrome, hypokalaemic alkalosis with hypercalciuria, is caused by mutations in the Na-K-2Cl cotransporter NKCC2. *Nat Genet* 1996;13:183-8.
34. Maron BJ, Gardin JM, Flack JM, Gidding SS, Kurosaki TT, Bild DE. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a general population of young adults: echocardiographic analysis of 4111 subjects in the CARDIA Study: Coronary Artery Risk Development in (Young) Adults. *Circulation* 1995;92:785-9.

35. Seidman CE, Seidman JG. "Hypertrophic cardiomyopathy".: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. 8th ed. Vol. 4. New York: McGraw-Hill, 2001: 5433-50.
36. Seidman JG, Seidman C. The genetic basis for cardiomyopathy: from mutation identification to mechanistic paradigms. *Cell* 2001;104:557-67.
37. NHLBI Program for Genomic Applications. Genomics of cardiovascular development, adaptation, and remodeling. Boston: Beth Israel Deaconess Medical Center, 2003. (Accessed June 10, 2003, at http://cardiogenomics.med.harvard.edu/project-detail?project_id=230#data.)
38. Roberts R, Sigwart U. "New concepts in hypertrophic cardiomyopathy". *Circulation* 2001;104:2113-6.
39. Keating MT, Sanguinetti MC. "Molecular and cellular mechanisms of cardiac arrhythmias." *Cell* 2001;104:569-80.
40. Splawski I, Shen J, Timothy KW, et al. Spectrum of mutations in long-QT syndrome genes: KVLQT1, HERG, SCN5A, KCNE1, and KCNE2. *Circulation* 2000;102:1178-85.
41. Svensson PJ, Dahlbäck B. "Resistance to activated protein C as a basis for venous thrombosis". *N Engl J Med* 1994;330:517-22.
42. Griffin JH, Evatt B, Wideman C, Fernández JA. "Anticoagulant protein C pathway - defective in majority of thrombophilic patients". *Blood* 1993;82:1989-93.
43. Koster T, Rosendaal FR, de Ronde H, Briët E, Vandenbroucke JP, Bertina RM. "Venous thrombosis due to poor anticoagulant response to activated protein C: Leiden Thrombophilia Study". *Lancet* 1993;342: 1503-6.
44. Ridker PM, Hennekens CH, Lindpaintner K, Stampfer MJ, Eisenberg PR, Miletich JP. "Mutation in the gene coding for coagulation factor V and the risk of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis in apparently healthy men". *N Engl J Med* 1995;332:912-7.
45. Smith DJ, Lusk AJ, "The allelic structure of common disease" *Hum. Mol. Genet.* 2002;11:2455-2461
46. Camm AJ, Luescher TF, Serruys "Choroby serca i naczyń" S. Priori, Napolitano C., Humphries S., Digillio M.C., Kotwinski P., Marino B., Zagadnienia genetyczne w chorobach układu krążenia" T. I : rozdz. 7, 220-221
47. Pyeritz RE: Genetics and cardiovascular disease. Braunwald E *Textbook of Cardiovascular Medicine*. WB Saunders Company, Philadelphia 1997;1650-1686.

48. Narkiewicz K, Pawłowski R, Bigda J, Krupa-Wojciechowska B: Zastosowanie metod biologii molekularnej w ocenie genetycznego podłoża chorób układu krążenia. *Kardiologia Polska* 1997;XLVI:245-251.
49. Hamsten A. Molecular genetics as the route to understanding, prevention, and treatment. *Lancet* 1996;348:S187-19.
50. Friedman JM, Hayden MR, McGillivray: Wzajemne oddziaływanie genetyki i środowiska. Limon J red: *Genetyka*. Urban and Partner, Wrocław 1997:143-164.
51. Marian AJ: Genetic risk factors for myocardial infarction. *Current Opinion in Cardiology* 1998;13:171-178.
52. Rossi GP, Narkiewicz K, Cesari M i wsp: Genetic determinants of plasma ACE and renin activity in young normotensive twins. *J Hypertens* 1999;17:647-655.
53. Andrieu N, Goldstein AM: Epidemiologic and genetic approaches in the study of gene-environment interaction: an overview of available methods. *Epidemiol Rev* 1998;20:137-147.
54. Malik F, Lavie C, Mehra M, Maliani R, Re R: Renin-angiotensin system: Genes to bedside. *Am Heart J* 1997;134:514-26.
55. Erdos EG: Angiotensin I-converting enzyme and the changes in our concepts throughout the years. *Hypertension* 1990;16:363-370.
56. Latini R, Maggioni AP, Flather M, Sleight P, Tognoni G: ACE inhibitor use in patients with myocardial infarction: summary of evidence from clinical trials. *Circulation* 1995;92:3132-3137.
57. Timmermans PBMWM, Wong PC, Chiu AT i wsp: Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacol Rev* 1993;45:205-225.
58. Stajszczyk M, Gmiński J: Układ renina-angiotensyna a miażdżyca. *Post Hig Med Dośw* 1993;47:475-485.
59. Stajszczyk M, Gmiński J: Rola polimorfizmu DNA układu renina-angiotensyna w patogenezie chorób układu krążenia. *Post Hig Med Dośw* 1997;51:171-183.
60. Marian AJ, Safavi F, Ferlic R i wsp: Interactions between angiotensin-I converting enzyme Insertion/deletion polymorphism and response of plasma lipids and coronary atherosclerosis to treatment with fluvastatin. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:89-95.
61. Marian AJ, Safavi F, Ferlic R i wsp: Interactions between angiotensin-I converting enzyme Insertion/deletion polymorphism and response of plasma lipids and coronary atherosclerosis to treatment with fluvastatin. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:89-95.

62. Alhenc-Gelas F, Soubrier F, Hubert C, Allegrini J, Lattion AL., Corvol P: The angiotensin I-converting enzyme (kinase II): progress in molecular and genetic structure. *J cardiovasc Pharmacol* 1990;15(suppl 6):S25-S29.
63. Hubert C, Hout AM, Corvol P, Soubrier F: Structure of the angiotensin I-converting enzyme gene. *J Biol Chem* 1991;266:15377-15383.
64. Rigat B, Hubert C, Corvol P, Soubrier F. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene DCP1 (dipeptidyl carboxypeptidase 1). *Nucl Acids Res* 1992;20:1433.
65. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F: An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I- converting enzyme gene accounting for half a variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990;86:1343- 1346.
66. Komajda M, Charron P, Tesson F: Genetic aspects of heart failure. *European Journal of Heart Failure* 1999;1:121-126.
67. Chrostowska M, Narkiewicz K, Bigda J i wsp: Ambulatory systolic blood pressure is related to the deletion allele of angiotensin I converting enzyme gene in young normotensives with parental history of hypertension. *Clin Exp Hypertens* 1998;20:283-294.
68. Agerholm- Larsen B. Nordestgaard B.G., Steffensen R. I wsp. „ ACE genepolymorphism: ischemic heart disease and longevity in 10150 individuals. A case referent and retrospective cohort study based on the Copenhagen City Heart Study” *Circulation* 1997;95:2358-2367
69. Agerholm- Larsen B, Nordestgaard B.G., Tybjaerg- Hansen A. “ ACE gene polymorphism in cardiovascular disease. Meta- analyses of small and large studies in whites” *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2000; 20: 484-492;
70. ; Jeunemaitre X, Ledru F., Battaglia S. i wsp. “ Genetic polymorphism of the renin-angiotensin system and angiographic extent and severity of coronary artery disease: the CORGENE study.” *Hum. Genet.* 1997;99:66-73;
71. Pfohl M., Koch M., Haase K.K. i wsp. „ Angiotensin I- converting enzyme gene polymorphism, coronary artery disease and myocardial infarction. An angiographically controlled study.” *Eur. Heart J.* 1999; 20:1318-1325
72. Takayanagi R, Ohnaka K, Sakai Y i wsp: Molecular cloning, sequence analysis and expression of a cDNA encoding human type-1 angiotensin II receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;183:910-916.

73. Tired L, Bonnardeaux A, Poirier O i wsp: Synergistic effects of angiotensin-converting enzyme and angiotensin-II type 1 receptor gene polymorphism on risk of myocardial infarction. *Lancet* 1994;344:910-913.
74. Tired L, Bonnardeaux A, Poirier O i wsp: Synergistic effects of angiotensin-converting enzyme and angiotensin-II type 1 receptor gene polymorphism on risk of myocardial infarction. *Lancet* 1994;344:910-913.
75. Anvari A, Turel Z, Schmidt A i wsp: Angiotensin-converting enzyme and angiotensin II receptor 1 polymorphism in coronary disease and malignant ventricular arrhythmias. *Cardiovascular Research* 1999;43:879-883.
76. Gardeman A, Humme J, Stricker J i wsp: 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* 1998;80:214-217.
77. Simon J, Krege J, Oliver P i wsp: Genetic decreases in atrial natriuretic peptide and salt-sensitive hypertension. *Science* 1995;267:679-681.].
78. Rutledge D, Sun Y, Ross E: Polymorphisms within the atrial natriuretic peptide gene in essential hypertension. *J Hypertens* 1995;13:953-955.)
79. Levin E, Gardner D, Samson W: Natriuretic peptides. *N Engl J Med* 1998;339:321-327.
80. Hirata K, Akita H, Yokoyama M, Watanabe Y: Impaired Vasodilatory Response to atrial natriuretic peptide during atherosclerosis progression. *Atherosclerosis* 1992;12:99-105.
81. Morishita R, Gibbons G, Pratt R i wsp: Autocrine and paracrine effects of atrial natriuretic peptide gene transfer ov vascular smooth muscle and endothelial cellular growth. *J Clin Invest* 1994;92:824-829.
82. Kugiyama K, Sugiyama S, Matsumura T i wsp: Supression of atherosclerotic changes in cholesterol-fed rabbits treated with an oral inhibitor of neutral endopeptidase. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:1080-1087.
83. Barletta G, Stefani L, Del Bene R, Fronzaroli C, Veccharino S, Lazzeri C, Fantini F, La Villa G: Effects of exercise on natriuretic peptides and cardiac function in man. *Int J Cardiol* 1998;65:217-225.
84. Iivanainen A, Tikkanen I, Tilvis R i wsp: Associations between atrial natriuretic peptides, echocardiographic findings and mortality in an elderly population sample. *J Intern Med* 1997;241:261-268.

85. Hall C, Rouleau JL, Moye L i wsp: N-terminal proatrial natriuretic factor. An independent predictor of long-term prognosis after myocardial infarction. *Circulation* 1994;89:1934-42.
86. Lohmeier TE, Mizelle HL, Reinhart GA, Montani JP, Hord Jr CE, Didlake HR: Atrial natriuretic peptide and sodium homeostasis in compensated heart failure. *Am J Physiol* 1996;271:R1353-63.
87. Kyriakides Z, Markianos M, Iliodromitis E, Kremastinos D i wsp: Vein plasma endothelin-1 and cyclic GMP increase during angioplasty is related to myocardial ischaemia. *Eur Heart J* 1995;16:894-898.
88. Uusima P, Ikaheimo M, Ruskoaho H i wsp: Release of atrial natriuretic peptide in relation to metabolic changes during myocardial ischaemia induced by coronary angioplasty. *Eur Heart J* 1993;14:682-686.
89. Kikuta K, Yasue H, Yoshimura M i wsp: Increased plasma levels of B-type natriuretic peptide in patients with unstable angina. *Am Heart J* 1996;132:101-107.
90. Hall C, Cannon C, Forman S i wsp.: Prognostic value of N-terminal proatrial natriuretic factor plasma levels measured within the first 12 hours after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1995;26:1452-1456.
91. Itah H, Pratt R, Ohno M, i wsp. „ Atrial natriuretic peptide as a novel antigrowth factor of endothelial cells” *Hypertension* 1992;19:758-61
92. Zlock DW, Cao Z, Wu j, I wsp. „ Thrombin inhibits atrial natriuretic peptide receptor activity in cultured bovine endothelial cells” *Hypertension* 1997; 29: 83-90
93. Levin E, Gardner D, Samson W, “ Natriuretic peptides” *N. Engl. J. Med.* 1998; 339:321-7
94. Hirata K, Akita H, Yokoyama M, i wsp.” Impaired vasodilatory response to atrial natriuretic peptide during atherosclerosis progression” *Atherosclerosis* 1992; 12: 99-105
95. Kugiyama K, Sugiyama S, Matsumura T i wsp. „ Suppression of atherosclerotic changes in cholesterol- fed rabbits treated with an oral inhibitor of neutral endopeptidase” *Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1996; 16: 1080-7
96. Masharani U, Nakashima P., Lim D, Frossard P: NsiI and ScaI restriction fragment length polymorphisms at the atrial natriuretic peptides (ANP) gene locus. *Hum Genet* 1988;80:307.
97. Nemer M, Chambertand M, Sirois D i wsp: Gene structure of human cardiac hormone precursor, pronatriodilantin. *Nature* 1984;312:654-656.

98. Ramasawmy R, Kotea N, Lu C i wsp: Investigation of the polymorphic ScaI site by a PCR-based assay at the human natriuretic peptides (hANP) gene locus. *Hum Genet* 1992;90:323-324.
99. World Health Organisation. *Diabetes mellitus*. Geneve, 1985;727.
100. Rigat B, Hubert C, Corvol P, Soubrier F. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene DCP1 (dipeptidyl carboxypeptidase 1). *Nucl Acids Res* 1992;20:1433.
101. Lindpaintner K, Pfeffer MA, Kreutz R i wsp. A prospective evaluation of an angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart disease. *N Engl J Med*. 1995;332:706-711.
102. Katsuya T., Koike G., Yee T.W. i wsp. Association of angiotensinogen gene T235 variant with increased risk of coronary heart disease. *Lancet* 1995, 345, 1600-1603.
103. Weiss EJ, Bray PF, Tayback M i wsp: A polymorphism of the platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. *N Engl J Med*. 1996;334:1090-94.
104. Ramasawmy R, Kotea N, Lu C i wsp: Investigation of the polymorphic ScaI site by a PCR-based assay at the human natriuretic peptides (hANP) gene locus. *Hum Genet* 1992;90:323-324.
105. Rywik S, Sznajd J, Magdon M i wsp. „Eksperyment Polski” dotyczący prewencji choroby wieńcowej. *Przegl Lek* 1986;43:581-601.
106. Ogólnopolskie i regionalne rozpowszechnienie głównych czynników ryzyka układu sercowo-naczyniowego. Wyniki ogólnopolskiego badania stanu zdrowia ludności program WOBASZ. *Kardiol Pol* 2005;63(Suppl. 4):614-85.
107. Vasani RS, Larson MG, Leip EP, et al. Assessment of frequency of progression to hypertension in nonhypertensive participants in The Framingham Heart Study. *Lancet*. 2001;358:1682-1686).
108. Zdrojewski T, Bandosz P, Szpakowski P, et al. Ocena wybranych problemów dotyczących rozpowszechnienia i terapii nadciśnienia tętniczego w Polsce na podstawie badania NATPOL PLUS. W: *Postępy w nefrologii i nadciśnieniu tętniczym*. T. 2. 2002. Więcek A, Kokot F (red.). *Medycyna Praktyczna*, Kraków 2003.

109. Pająk A, Kawalec E. Rozpowszechnienie i skuteczność postępowania w nadciśnieniu tętniczym. Wyniki badania długofalowego Pol-MONICA Kraków. Medipress Kardiologia 1994;1:3-6

110. Polakowska M, Piotrkowski W, Włodarczyk P, Broda G, Rywik S. Program epidemiologiczny oceniający częstość nadciśnienia tętniczego w Polsce w populacji osób dorosłych - badanie PENT Część I. Charakterystyka częstości i stopień kontroli nadciśnienia tętniczego. Nadciśnienie Tętnicze 2002;6(3):157-166.

111. Thamm M. Blood pressure in Germany--current status and trends. Gesundheitswes. 1999;61 Spec No:S90-3.

112. Stegmayr B, Vinogradova T, Malyutina S, Peltonen M, Nikitin Y, Asplund K. Widening gap of stroke between east and west. Eight-year trends in occurrence and risk factors in Russia and Sweden. Stroke. 2000;31(1):2-8.

113. Joffres MR, Ghadirian P, Fodor JG et al. Awareness, treatment and control of hypertension in Kanada. Am J Hypertens 1997;10:1097-1102.

114. Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. N Engl J Med. 1998;339(4):229-34.

115. Steinberg D. The cholesterol controversy is over: Why did it take so long? Circulation 80:1070-1078, 1989, Pearson T, Fuster V, 27 Bethesda Conference. Matching the Intensity of Risk Factor. Management with the Hazard for Coronary Disease Events J Am. Coll Cardiol. 27:957-1047; 1996).

116. Biggart S, Chin D, Fauchon M i wsp: Association of genetic polymorphism in the ACE, ApoE, and TGFB genes with early onset ischemic heart disease. Clin Cardiol 1999;21:831-836.)

117. Friedman JM, Hayden MR, McGillivray: Wzajemne oddziaływanie genetyki i środowiska. Limon J red: Genetyka. Urban and Partner, Wrocław 1997:143-164. Andrieu N, Goldstein AM: Epidemiologic and genetic approaches in the study of gene-environment interaction: an overview of available methods. Epidemiol Rev 1998;20:137-147. Marian AJ: Genetic risk factors for myocardial infarction. Current Opinion in Cardiology 1998;13:171-178.

118. Pyörälä K, deBacker G, Graham I et al. Prevention of coronary heart disease in clinical practice. Recommendations of the Task Force of the European Society of Cardiology European Atherosclerosis Society and European Society of Hypertension. *Eur Heart J* 1994;15:1300–31.
119. Conroy R.M., Pyörälä K., Fitzgerald A.P., Sans S., Menotti A., De Backer G, De Bacquer D., Ducimetière P., Jousilahti P., Keil U., Njølstad I., Oganov R.G., Thomsen T., Tunstall-Pedoe H., Tverdal A., Wedel H., Whincup P., Wilhelmsen L., Graham I.M. on behalf of the SCORE project group. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *Eur. Heart J.* 2003;24:987-1003.
120. http://www.escardio.org/knowledge/decision_tools/heartscore/pl/
121. Cambien F, Poirier O, Lecerf L i wsp: Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992;359:641-644
122. Skeggs L.T., Kahn J.R., Shumway N.P., The preparation and function of the hypertensin-converting enzyme, *J. Exp. Med.*, Volume: 103, (1957), pp. 295—299
123. Rossi GP, Narkiewicz K, Cesari M i wsp: Genetic determinants of plasma ACE and renin activity in young normotensive twins. *J Hypertens* 1999;17:647-655.
124. Tiret L, Rigat B, Visvikis S, i wsp: Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that the variant of angiotensin I- converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. *Am J Hum Genet* 1992;51:197-205.
125. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F: An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I- converting enzyme gene accounting for half a variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990;86:1343- 1346.
126. Trzeciak T, Szymczyńska-Mullauer A, Kwiatkowska J, Horst A, Słomski R: Analiza polimorfizmu genu konwertazy angiotensynowej (ACE) u chorych z przebyłym zawałem mięśnia sercowego w populacji polskiej. *Pol Arch Med Wewn* 1996;95:3540.
127. Shanmugam V, Sell Kwsaha BK: Mistyping ACE heterozygotes. *PCR Methods Appl* 1993;3:120-121.)

128. Samani NJ, Thompson JR, O'Toole L, Channer K, Woods KL: A meta-analysis of association of the deletion allele of the angiotensin-converting enzyme gene with myocardial infarction. *Circulation* 1996;94:708-712.
129. Heijmans BT, Westendorp RGJ, Knook DL, Kluft C, Slagboom PE: Angiotensin I-converting enzyme and plasminogen activator inhibitor-1 gene variants: risk of mortality and fatal cardiovascular disease in an elderly population-based cohort. *J AM Coll Cardiol* 1999;34:1176-1183.
130. Staessen JA, Wang JG, Ginocchio G i wsp: The deletion/insertion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and cardiovascular-renal risk. *J Hypertens* 1997;15:1579-1592.
131. Ciechanowicz A., Januszewicz A., Januszewicz W., Rużyłło W."Genetyka chorób układu krążenia" Aspekty genetyczne choroby niedokrwiennej serca, 88
132. Beohar N, Damaraju S, Prather A i wsp: Angiotensin-I converting enzyme DD genotype is a risk factor for coronary artery disease. *J Invest Med* 1995;43:275-280.
133. Arbustini E, Grasso M, Fasani R i wsp: Angiotensin converting enzyme gene deletion allele is independently and strongly associated with coronary atherosclerosis and myocardial infarction. *Br Heart J* 1995;75:584-280.
134. Sigush HH, Vogt S, Gruber U i wsp: Angiotensin-I-converting enzyme DD genotype is a risk factor of coronary artery disease. *Scand J Clin La Invest* 1997;57:127-132.
135. Wang XL, McCredie RM, Wilcken DE: Genotype distribution of angiotensin-converting enzyme polymorphism in Australian healthy and coronary populations and relevance to myocardial infarction and coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:115-119.
136. Badenhop RF, Wang XL, Wilcken DE: Angiotensin-converting enzyme genotype in children and coronary events in their grandparents. *Circulation* 1995;91:1655-1658.
137. Morris BJ, Zee RLY, Schrader AP: Different frequencies of angiotensin-converting enzyme genotypes in older hypertensive individuals. *J Clin Invest* 1994;94:1085-1089.
138. Evans AE, Poirier O, Kee F i wsp: Polymorphism of the angiotensin-converting-enzyme gene in subjects who die from coronary artery disease. *Quart J Med* 1994;87:211-214.
139. Berge KE, Berg K: Cardiovascular risk factors in people with different genotypes in the insertion/deletion (I/D) polymorphism at the locus for angiotensin I-converting enzyme (ACE). *Clin Genet* 1997;52:422-426.
140. Amant C, Bauters Ch, Bodart JCh i wsp: D allele of the angiotensin I-converting enzyme is a major risk factor for restenosis after coronary stenting. *Circulation* 1997;96:56-60.

141. Ribichini F, Steffenino G, Dellavalle A i wsp: Plasma activity and insertion/deletion polymorphism of angiotensin I-converting enzyme: a major risk factor and marker of risk for coronary stent restenosis. *Circulation* 1998;97:147-154.
142. Ohishi M, Fujii K, Minamino T, i wsp. A potent genetic risk factor for restenosis (letter). *Nat. Genet.* 1993;5:324-325)
143. Hamon M, Amant C, Bauters Ch i wsp: Dual determination of angiotensin-converting enzyme and angiotensin-II type 1 receptor genotypes as predictors of restenosis after coronary angioplasty. *Am J Cardiol* 1998;81:79-81.
144. Hamon M, Bauters Ch, Amant C i wsp: Relation between the deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and late luminal narrowing after coronary angioplasty. *Circulation* 1995;92:296-299.
145. Hamon M, Amant C, Bauters Ch, Lablanche JM, Bertrand M, Amouel PH: ACE polymorphism, a genetic predictor of occlusion after coronary angioplasty. *Am J Cardiol* 1996;78:679-681.
146. Bockxmeer FM, Mamotte CDS, Gibbons FA, Burke V, Taylor RR: Angiotensin-converting enzyme and apolipoprotein E genotypes and restenosis after coronary angioplasty. *Circulation* 1995;92:2066-2071.
147. Samani NJ, Martin DS., Brack M i wsp: Insertion/deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene and risk of restenosis after coronary angioplasty. *Lancet* 1995;345:1013-1016.
148. Haberbosch W, Bohle MR, Franke FE i wsp: The expression of angiotensin-I converting enzyme in human atherosclerotic plaques is not related to the insertion/deletion polymorphism but to the risk of restenosis after coronary interventions. *Atherosclerosis* 1997;130:203-213.
149. Kastrati A, Schormig A, Elezi S i wsp: Predictive factors of restenosis after percutaneous coronary revascularization. *J Am Coll Cardiol* 1996;28:1643-1651.
150. Faxon DP: Identifying the predictors of restenosis: do we need new glasses? *Circulation* 1997;95:2244-2246.
151. Van Geel PP, Pinto YM, Voors AA i wsp: Angiotensin II type 1 receptor A1166C gene polymorphism is associated with an increased response to angiotensin II in human arteries. *Hypertension* 2000;35:717-721.

152. Henrion D, Amant C, Benessiano J i wsp: Angiotensin II type 1 receptor A1166C gene polymorphism is associated with an increased vascular reactivity in the human mammary artery in vitro. *J Vasc Res* 1998;35:356-362.
153. Amant C, Hamon M, Bauters C i wsp: The angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism is associated with coronary artery vasoconstriction. *J Am Coll Cardiol* 1997;29:486-90
154. Keavney B, McKenzie C, Parish S i wsp: Large-scale test of hypothesised associations between the angiotensin-converting-enzyme insertion/deletion polymorphism and myocardial infarction in about 5000 cases and 6000controls. *Lancet* 2000;355:434-442.
155. Berge KE, Bakken A, Bohn M, Erikssen J, Berg K: A DNA polymorphism at the angiotensin II type 1 receptor (AT1R) locus and myocardial infarction. *Clin. Genet* 1997; 52:71-76.
156. Chiang F, Tseng C, Hsu K i wsp: Atrial natriuretic peptide gene polymorphism is not associated with essential hypertension: evidence of association with ethnic origin. *J Hum Hypertens* 1996;10:334.
157. Schorr U, Beige J, Ringel J i wsp: HpaII polymorphism of the atrial natriuretic peptide gene and the blood pressure response to salt intake in normotensive men. *J Hypertens* 1997;15:715-718.
158. Barley J, Carter N, Cruickshank J i wsp: Renin and atrial natriuretic peptide restriction fragment length polymorphisms: association with ethnicity and blood pressure. *J Hypertens* 1991;9:993-996.
159. Richter D, Soccio M, Needham E i wsp: Investigation of ScaI ANP gene polymorphism in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Eur Heart J* 1997,18(Abstract Supplement),P2293.
160. Richter D, Soccio M, Needham E i wsp: Investigation the atrial natriuretic peptide gene in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J* 1997;18(Abstract Supplement):911.
161. Biselli R, Farrace S, De Simone C, Fattarossi A: Potentiation of human polymorphonuclear leukocyte activation by atrial natriuretic peptide. Inhibitory effect of carnitine congeners. *Inflammation* 1996;20:33-42.
162. Ukai M, Nishinaka Y, Sobue T, Miyahara T, Yokota M: Improvement in exercise-induced left ventricular dysfunction by infusion of alfa-human atrial natriuretic peptide in coronary artery disease. *Am J Cardiol*1995;75:449-54.

163. Handin RI: Platelets and coronary artery disease. *N Engl J Med* 1996;334:1126-1127.
164. Ridker PM, Hennekens CH, Schmitz C, Stampfer MJ, Lindpaintner K: PIA1/A2 polymorphism of platelet glycoprotein Iia and risks of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis. *Lancet* 1997;349:385-388.
165. Herrmann SM, Poirier O, Marques-Vidal P i wsp: The Leu33/Pro polymorphism (PIA1/PIA2) of the glycoprotein IIIa (GPIIIa) receptor is not related to myocardial infarction in the ECTIM study. *Thromb Haemost* 1997;77:1179-81.
166. Carter A, Ossei-Gerning N, Wilson IJ, Grant PJ: Association of the platelet PIA polymorphism of glycoprotein IIb/IIIa and fibrinogen B β 448 polymorphism with myocardial infarction and extent of coronary artery disease. *Circulation* 1997;96:1424-1431.
167. Garcia-Ribes M, Gonzalez-Lamuno D, Hernandez-Estefania R i wsp: Polymorphism of the platelet glycoprotein IIIa gene in patients with coronary stenosis. *Thromb Haemost* 1998;79:1126-1229.
168. Kastrati A, Schomig A, Seyfarth M i wsp: PIA polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risk of restenosis after coronary stent placement. *Circulation* 1999;99:1005-1010.
169. Montgomery HE, Clarkson P, Dollery CM i wsp.: Association of the angiotensin converting enzyme gene I/D polymorphism with change in left ventricular mass in response to physical training. *Circulation* 1997;96:741-747.
170. Pinto YM, van Gilst WH, Kingma JH, Schunkert H: deletion-type allele of the angiotensin-converting enzyme gene is associated with progressive ventricular dilatation after anterior myocardial infarction. CATS investigators. *J Am Coll Cardiol* 1995;25:1622-1626.
171. Todd JA: Interpretation of results from genetic studies of multifactorial diseases. *Lancet* 1999;354(suppl I):SI15-16.

