

Bartosz Curyłło

**Wartość prognostyczna analizy polimorfizmów wybranych genów
u chorych po zabiegach niechirurgicznej rewaskularyzacji tętnic
wieńcowych**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: Prof. dr hab. med. Andrzej Rynkiewicz

I Katedra i Klinika Kardiologii

Akademii Medycznej w Gdańsku

Gdańsk 2009

Składam najserdeczniejsze podziękowania promotorowi - Panu Profesorowi Andrzejowi Rynkiewiczowi za cierpliwość i nieocenioną pomoc okazaną przy tworzeniu tej pracy.

Za przychyłność i pomoc dziękuję także:

Panu Profesorowi Januszowi Limonowi i Panu Doktorowi Dariuszowi Ciećwierzowi oraz kierowanym przez nich Zespołom Katedry i Zakładu Biologii i Genetyki oraz Samodzielnej Pracowni Diagnostyki Inwazyjnej Chorób Serca i Naczyń AM w Gdańsku,

Panu Doktorowi hab. Marcinowi Gruchale, dzięki któremu zacząłem stawiać pierwsze kroki w świecie nauki i który przez te wszystkie lata był dla mnie niedoścignionym wzorem i zawsze wspierał mnie swoją radą,

Koleżankom i Kolegom z I Kliniki i Katedry Kardiologii AM w Gdańsku.

Szczególne wyrazy wdzięczności należą się mojemu zmarłemu Tacie, Mamie oraz Żonie Annie i Teściowej, którzy wspomagając mnie w mojej pracy wykazywali cierpliwość oraz tolerowali moje kaprysy i złe humory.

Spis treści

I.	WYKAZ CZĘŚCIEJ UŻYWANYCH SKRÓTÓW I TERMINÓW	6
II.	WSTĘP	8
2.1.	Choroba niedokrwienna serca	8
2.2.	Leczenie inwazyjne w chorobie wieńcowej	10
2.2.1.	Prześłowanie tętnic wieńcowych	10
2.2.2.	Angioplastyka tętnic wieńcowych	12
2.2.3.	Restenoza	15
2.2.4.	Porównanie wyników leczenia za pomocą PTCA i CABG	17
2.3.	Czynniki genetyczne w chorobie wieńcowej	20
2.4.	Polimorfizmy wybranych genów jako potencjalne czynniki rokownicze po PCI	21
2.4.1.	Polimorfizm <i>insercyjno/delecyjny</i> genu enzymu konwertującego angiotensynę I (<i>I/D ACE</i>)	21
2.4.2.	Polimorfizm <i>A1166C</i> genu receptora dla angiotensyny II typu 1 (<i>A1166C AT1R</i>)	22
2.4.3.	Polimorfizm <i>M235T</i> genu angiotensynogenu (<i>M235T AGT</i>)	23
2.4.4.	Polimorfizm <i>C344T</i> genu syntazy aldosteronu (<i>C344T CYP11B2</i>)	24
2.4.5.	Interakcje między wariantami polimorficznymi układu renina-angiotensyna-aldosteron	25
2.4.6.	Polimorfizm <i>Leu33/Pro</i> genu glikoproteiny płytkowej IIIa (<i>PLA1/PLA2 GPIIIa</i>)	26
2.4.7.	Polimorfizm <i>G460W</i> genu alfa-adducyny (<i>G460W ADD1</i>)	28
2.4.8.	Polimorfizm <i>C825T</i> genu podjednostki beta-3 białka G (<i>C825T GNB-3</i>)	29
2.4.9.	Polimorfizm <i>T2238C</i> genu przedsionkowego czynnika natriuretycznego (<i>ScaI ANP</i>)	31
III.	CEL BADAŃ I GŁÓWNA HIPOTEZY BADAWCZA	33
IV.	MATERIAŁ I METODY	34
4.1.	Badana grupa	34
4.2.	Dane kliniczne	34
4.3.	Procedura przezskórnej angioplastyki wieńcowej	36
4.4.	Izolacja materiału genetycznego i oznaczanie polimorfizmów wybranych genów	36
4.4.1.	Oznaczanie polimorfizmu <i>insercyjno/delecyjnego</i> genu enzymu konwertującego angiotensynę I (<i>I/D ACE</i>)	38

4.4.2.	Oznaczenie polimorfizmu <i>A1166C</i> genu receptora dla angiotensyny II typu 1 (<i>A1166C AT1R</i>)	43
4.4.3.	Oznaczenie polimorfizmu <i>M235T</i> genu angiotensynogenu (<i>M235T AGT</i>)	46
4.4.4.	Oznaczenie polimorfizmu <i>C344T</i> genu syntazy aldosteronu (<i>C344T CYP11B2</i>)	49
4.4.5.	Oznaczenie polimorfizmu <i>Leu33/Pro</i> genu glikoproteiny płytkowej IIIa (<i>PLA1/PLA2 GPIIIa</i>)	52
4.4.6.	Oznaczenie polimorfizmu <i>G460W</i> genu alfa-adducyny (<i>G460W ADD1</i>)	55
4.4.7.	Oznaczenie polimorfizmu <i>C825T</i> genu podjednostki beta-3 białka G (<i>C825T GNB-3</i>)	58
4.4.8.	Oznaczenie polimorfizmu <i>T2238C</i> genu przedsionkowego czynnika natriuretycznego (<i>ScaI ANP</i>)	61
4.5.	Metody analizy statystycznej	64
V.	WYNIKI	65
5.1.	Związek podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego z ryzykiem wystąpienia punktów końcowych w okresie obserwacji po zabiegu PTCA	66
5.2.	Częstość występowania punktów końcowych w okresie obserwacji w wybranych grupach chorych po zabiegu PTCA	74
5.3.	Polimorfizm <i>insercyjno/delecyjny</i> genu enzymu konwertującego angiotensynę I (<i>I/D ACE</i>), a incydenty wieńcowe po zabiegach PTCA	77
5.4.	Polimorfizm <i>A1166C</i> genu receptora dla angiotensyny II typu 1 (<i>A1166C AT1R</i>), a incydenty wieńcowe po zabiegu PTCA	80
5.5.	Polimorfizm <i>M235T</i> genu angiotensynogenu (<i>M235T AGT</i>), a incydenty wieńcowe po zabiegu PTCA	82
5.6.	Polimorfizm <i>C344T</i> genu syntazy aldosteronu (<i>C344T CYP11B2</i>), a incydenty wieńcowe po zabiegu PTCA	84
5.7.	Polimorfizm <i>Leu33/Pro</i> genu glikoproteiny płytkowej IIIa (<i>PLA1/PLA2 GPIIIa</i>), a incydenty wieńcowe po zabiegu PTCA, a incydenty wieńcowe po zabiegu PTCA	86
5.8.	Polimorfizm <i>G460W</i> genu alfa-adducyny (<i>G460W ADD1</i>), a incydenty wieńcowe po zabiegu PTCA	89
5.9.	Polimorfizm <i>C825T</i> genu podjednostki beta-3 białka G (<i>C825T GNB-3</i>), a incydenty wieńcowe po zabiegu PTCA	91

5.10.	Polimorfizm <i>T2238C</i> genu przedsionkowego czynnika natriuretycznego (<i>ScaI ANP</i>), a incydenty wieńcowe po zabiegu PTCA	94
VI.	DYSKUSJA	97
6.1.	Wprowadzenie	97
6.2.	Częstość występowania punktów końcowych w badanej grupie w okresie obserwacji	98
6.3.	Polimorfizm <i>insercyjno/delecyjny</i> genu enzymu konwertującego angiotensynę I (<i>I/D ACE</i>)	100
6.4.	Polimorfizm <i>A1166C</i> genu receptora dla angiotensyny II typu 1 (<i>A1166C AT1R</i>)	101
6.5.	Polimorfizm <i>M235T</i> genu angiotensynogenu (<i>M235T AGT</i>)	102
6.6.	Polimorfizm <i>C344T</i> genu syntazy aldosteronu (<i>C344T CYP11B2</i>)	103
6.7.	Interakcje między wariantami polimorficznymi układu renina-angiotensyna-aldosteron	104
6.8.	Polimorfizm <i>Leu33/Pro</i> genu glikoproteiny płytkowej IIIa (<i>PLA1/PLA2 GPIIIa</i>)	104
6.9.	Polimorfizm <i>G460W</i> genu alfa-adducyny (<i>G460W ADD1</i>)	105
6.10.	Polimorfizm <i>C825T</i> genu podjednostki beta-3 białka G (<i>C825T GNB-3</i>)	106
6.11.	Polimorfizm <i>T2238C</i> genu przedsionkowego czynnika natriuretycznego (<i>ScaI ANP</i>)	108
6.12.	Podsumowanie	109
VII.	PODSUMOWANIE WYNIKÓW I WNIOSKI	111
VIII.	STRESZCZENIE	113
IX.	PIŚMIENNICTWO	119
X.	ANEKS	142

I. WYKAZ CZĘŚCIEJ UŻYWANYCH SKRÓTÓW I TERMINÓW

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

PCI -	przezskórne interwencje wieńcowe (<i>percutaneous coronary interventions</i>)
PCR -	łańcuchowa reakcja polimerazy DNA (<i>polymerase chain reaction</i>)
POBA -	klasyczna angioplastyka balonowa (<i>plain old balloon angioplasty</i>)
Starter -	oligonukleotydowa sekwencja komplementarna do końców określonej sekwencji matrycowego DNA
PTCA -	przezskórna angioplastyka wieńcowa (<i>percutaneous transluminal coronary angioplasty</i>)
pz -	ilość par zasad w łańcuchu DNA jako jednostka długości łańcucha DNA
QCA -	komputerowa angiografia ilościowa (<i>quantitative coronary angiography</i>)
RAAS -	układ renina-angiotensyna-aldosteron (<i>renin-angiotensin-aldosterone system</i>)
RFLP -	polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (<i>restriction fragment length polymorphism</i>)
SDS -	siarczan dodecyłu sodu (<i>sodium dodecyl sulfate</i>)
T -	tymina
Taq -	termostabilna polimeraza DNA (<i>Thermus aquaticus</i>)
TC -	cholesterol całkowity (<i>total cholesterol</i>)
TG -	trójglicerydy
Tris -	trójhydroksymetyloaminometan
TVR -	rewaskularyzacja naczynia docelowego (<i>target vessel revascularization</i>)
UA -	niestabilna dusznica bolesna (<i>unstable angina</i>)
vs -	<i>versus</i>

Wielkości fizyczne:

°C -	stopień Celsjusza
d -	doba
µl -	mikrolitr
h -	godzina
M -	mol
min. -	minuta
ml -	mililitr
mmHg -	milimetry słupka rtęci
obr. -	obroty
pz -	pary zasad
sek. -	sekunda

II. WSTĘP

2.1. Choroba niedokrwienna serca

Choroba niedokrwienna serca (Ischaemic Heart Disease / Coronary artery disease – IHD / CAD) jest zespołem objawów, towarzyszących niedokrwieniu mięśnia sercowego w wyniku zaburzenia napływu krwi tętniczej. Niedokrwienie mięśnia sercowego charakteryzuje się dysproporcją pomiędzy zapotrzebowaniem serca na tlen, a jego podażą [1]. Choroba wieńcowa jest najczęściej spowodowana miażdżycą tętnic wieńcowych, która prowadzi do zwężenia lub do zamknięcia światła tychże tętnic. Inne, rzadsze przyczyny niedokrwienia serca obejmują: wady zastawki aortalnej, zwężenie ujść tętnic wieńcowych, stan zapalny lub kurcz naczyń wieńcowych, wrodzone wady dotyczące tętnic wieńcowych, mostki mięśniowe, kardiomiopatię przerostową i rozstrzeniową a także (wyjątkowo rzadko) zator naczyń wieńcowych [2]. Wyróżniamy także tzw. pozawieńcowe przyczyny niedokrwienia mięśnia sercowego, jednak ze względu na to, że miażdżycy jest znacznie częstszą przyczyną choroby niedokrwiennej serca będzie ona przedmiotem niniejszej pracy doktorskiej [3].

W Polsce choroba niedokrwienna serca w dalszym ciągu, od wielu lat znajduje się na pierwszym miejscu wśród przyczyn zgonów. Mimo, iż obserwuje się stopniowy spadek umieralności z powodu choroby wieńcowej, pozostaje ona ogromnym problemem społecznym i ekonomicznym – nie tylko w naszym kraju. Wymiar tego problemu można przedstawić w dwóch liczbach: ok. 1.5 miliona osób w Polsce cierpi na CAD, a w ciągu roku ok. 80 tysięcy zapada na zawał serca [4].

W Polsce umieralność z powodu CAD spada sukcesywnie od 1991 roku. Standaryzowany współczynnik umieralności dorosłych do 65 r.ż. wynosił wówczas 116/100 tys. dla mężczyzn i 24/100 tys. dla kobiet. W roku 2005 te liczby wynosiły odpowiednio: 57/100 tys. i 12/100 tys.

Dla porównania: spadek umieralności z powodu udaru mózgu jest mniej wyraźny. Standaryzowany współczynnik umieralności dorosłych do 65 r.ż. wynosił w 1991 roku 32/100 tys. dla mężczyzn i 17/100 tys. dla kobiet. W 2005 roku współczynniki te wynosiły 28/100 tys. dla mężczyzn i 13/100 tys. dla kobiet [5].

Jak widać większą umieralność obserwuje się wśród mężczyzn. Jest ona także większa w społecznościach wiejskich [6].

Według danych europejskich choroba wieńcowa jest odpowiedzialna za ok. 20% zgonów mężczyzn i 15% zgonów kobiet (odpowiednio 127/100 tys. i 62/100 tys. w roku 2004) [7].

W Stanach Zjednoczonych Ameryki Północnej standaryzowana według wieku umieralność z powodu CAD wynosiła w 2005 roku ok. 170/100 tys. osób.

Mimo, że (według danych amerykańskich) ponad 83% osób, które giną z powodu choroby wieńcowej ma 65 lub więcej lat, to notuje się dużą umieralność wśród młodych i czynnych zawodowo ludzi [8]. W 2009 roku przewidywane wydatki (pośrednie i bezpośrednie) na leczenie choroby wieńcowej w Stanach Zjednoczonych Ameryki Północnej wyniosą ponad 165 miliardów dolarów. [9]

Dzięki poznaniu wieloczynnikowej natury choroby wieńcowej i wyznaczeniu głównych czynników ryzyka udało się najpierw powstrzymać wzrost umieralności z powodu CAD, a następnie doprowadzić do stopniowego jej zmniejszenia.

Najważniejszymi czynnikami ryzyka choroby wieńcowej są: dyslipoproteinemia, palenie tytoniu, nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, nadmierne spożywanie alkoholu, niska aktywność fizyczna, nadwaga i otyłość, płeć, wiek, dodatni wywiad rodzinny w kierunku chorób sercowo-naczyniowych oraz czynniki psychologiczne [10].

W ostatnich latach wyodrębniono kilka nowych czynników ryzyka, które mogą mieć istotne znaczenie, szczególnie u chorych obciążonych dużym ryzykiem. Takimi czynnikami ryzyka są np. lipoproteina (a), fibrynogen, molekuly adhezyjne, homocysteina, niektóre polimorfizmy genetyczne cząsteczek zaangażowanych m.in. w procesy miażdżycowe i zakrzepowe [11].

Identyfikacja czynników ryzyka CAD oraz ich modyfikacja (w przypadku czynników ryzyka poddających się modyfikacji) u danego chorego pomaga w zapobieganiu skutkom choroby niedokrwiennej serca. W indywidualnych przypadkach osób o wysokim ryzyku zawału serca lub udaru mózgu, wykrycie i objęcie kontrolą nawet wielu czynników ryzyka może zmniejszyć to ryzyko do poziomu uzasadniającego nakłady na ich oznaczanie [12].

W chwili obecnej oprócz badania podmiotowego i przedmiotowego w diagnostyce choroby wieńcowej znaczącą rolę odgrywają: spoczynkowe i wysiłkowe badanie elektrokardiologiczne i echokardiograficzne, badania izotopowe, tomografia komputerowa i rezonans magnetyczny. Największą wartość jednak przedstawia selektywna angiografia naczyń wieńcowych, która została wprowadzona do praktyki klinicznej przez Sonesa w 1959 i stała się najszerzej stosowaną procedurą w kardiologii inwazyjnej [13].

Koronarografia pozwala na oszacowanie zaawansowania choroby wieńcowej, a jej do niedawna subiektywna ocena, może zostać zobiektywizowana poprzez użycie wspomaganie przez nowoczesne techniki obliczeniowe. Obecnie zastosowanie koronarografii z cyfrową oceną ilościową zwężenia (QCA - quantitative coronary angiography), oraz ultrasonografii wewnątrznaczyniowej (IVUS – intravascular ultrasound) pomaga w ustaleniu optymalnej dla danego pacjenta strategii leczenia inwazyjnego.

2.2. Leczenie inwazyjne w chorobie wieńcowej

Obecnie istnieją dwie wzajemnie uzupełniające się metody przywracania adekwatnego ukrwienia mięśnia sercowego – tzw. rewaskularyzacji. Są to: przeszłowanie aortalno-wieńcowe - CABG (coronary artery by-pass grafting) oraz tzw. przezskórne interwencje wieńcowe – PCI (percutaneous coronary interventions).

2.2.1. Przesłowanie tętnic wieńcowych

Po raz pierwszy CABG wykonali w 1964 roku Garret, Dennis i DeBakey. Metoda ta była udoskonalana przez m.in. Favaloro i Johnsona w latach późniejszych. W USA procedura ta jest jedną z najczęściej wykonywanych operacji chirurgicznych (w 2006 roku zoperowano około 250 tys. pacjentów). W ostatnich latach (od 1998 roku) obserwuje się spadek wykonywanych operacji – najprawdopodobniej po części spowodowany coraz częstszym wykonywaniem PCI. [14] W Polsce w roku 2006 wykonano około 15 tysięcy tego typu operacji [15].

CABG polega na ominięciu zwężonych segmentów tętnic wieńcowych autologicznymi przeszłami żylnymi lub tętniczymi i przywróceniu prawidłowego napływu do dystalnych odcinków naczyń. Operacja ta wykonywana jest w krążeniu pozaustrojowym z dostępu przez pośrodkową torakotomię.

Obecnie stosuje się kilka modyfikacji tradycyjnych metod wykonywania CABG. Obejmują one:

- CABG bez wykorzystania krążenia pozaustrojowego (Off-Pump CABG – OPCAB). W porównaniu do tradycyjnego CABG obserwuje się porównywalne wyniki rewaskularyzacji przy mniejszej utracie krwi, mniejszej ilości zakażeń rany pooperacyjnej, mniejszym uszkodzeniu mięśnia sercowego w trakcie procedury, krótszym czasie mechanicznej wentylacji oraz hospitalizacji.

- tzw. „minimalnie inwazyjne CABG” (MIDCAB) – z dostępu przez ograniczoną lewostronną torakotomię. Operacja tego typu również wykonywana jest bez użycia krążenia pozaustrojowego. Wyniki uzyskiwane przy użyciu tej metody są porównywalne z uzyskiwanymi przez wykonanie tradycyjnego CABG.

- Port-access CABG (PACABG) – chirurgia tętnic wieńcowych poprzez ograniczony dostęp jest nowoczesną metodą chirurgicznej rewaskularyzacji mięśnia sercowego, polegającą na uzyskaniu dostępu do pola operacyjnego za pomocą małych portów. Operacja odbywa się z wykorzystaniem krążenia pozaustrojowego. Port-access CABG umożliwił wprowadzenie do praktyki klinicznej robotów chirurgicznych (TECAB – Totally endoscopic robotically assisted CABG).

Ideą poszukiwania i wprowadzania tych nowych, innowacyjnych metod operacji jest poprawienie przeżywalności pacjentów poddanych tym procedurom, zmniejszenie powikłań pooperacyjnych, a także nie mniej ważne - poprawienie komfortu pooperacyjnego pacjenta. Wstępne doniesienia nie potwierdzają wyższości nowych metod nad tradycyjnymi (wyniki są porównywalne), jednak podkreśla się, że ich ostateczny sukces będzie zależał od drożności graftów w długim okresie obserwacji i od dalszego rozwoju tych metod, który umożliwi lepszy dostęp do pola operacyjnego, co pozwoli na pełną rewaskularyzację.

Ze względu na coraz szersze zastosowanie PCI, w porównaniu do lat 70-tych ubiegłego wieku, pacjenci obecnie poddawani CABG są starsi i w gorszym stanie tzn.: częściej mają niestabilną dusznicę bolesną, chorobę trójnaczyńową, wcześniej wykonane procedury rewaskularyzacyjne, są obciążeni dysfunkcją lewej komory, cukrzycą i chorobą naczyń obwodowych.

Śmiertelność operacyjna wśród pacjentów poddanych CABG w ostatnich latach oscyluje wokół 3%. Ocenia się, że ok. 90% chorych przeżywa 5 lat, 74% - 10 lat, a 56% - 15 lat. Innym problemem związanym z rozległą operacją, jaką jest przeszłowanie aortalno-wieńcowe, jest występowanie powikłań pooperacyjnych takich jak: zawał mięśnia sercowego, powikłania ze strony układu oddechowego, krwawienia, zakażenia rany pooperacyjnej, powikłania neurologiczne, migotanie przedsionków, bradyarytmie i zaburzenia przewodzenia oraz niewydolność nerek.

CABG cechuje się jednak wysoką skutecznością, jeżeli chodzi o zmniejszenie dolegliwości dławicowych i poprawę jakości życia chorych i ocenia się, że ok. 80% operowanych pozostaje bez dolegliwości stenokardialnych w ciągu 5 lat od operacji. Odpowiednio po 10 i 15 latach odsetki te kształtują się na poziomie 63% i 15% [16].

Chorzy po CABG, którzy byli czynni zawodowo przed operacją w dużym odsetku powracają do pracy (ok. 80%).

Odległe dobre efekty CABG zależą w dużej mierze od zachowania drożności przeszłę. Wyniki różnią się w zależności od typu przeszła wykorzystanego do pomostowania naczyń wieńcowych.

Najczęściej do tego celu wykorzystuje się żyły odpiszczelowe pobrane od pacjenta – są to tzw. przeszczepy autologiczne. Z przeprowadzonych badań wynika, że po 10 latach od przeprowadzenia operacji drożnych pozostaje jedynie 50% przeszłę żylnych, a w 20-40% pozostałych obecne są istotne zmiany miażdżycowe.

Zupełnie inaczej przedstawia się sytuacja w odniesieniu do tętnicy piersiowej wewnętrznej. Odpowiednio po roku, 5 i 10 latach drożnych pozostaje 95, 88 i 83% przeszłę.

Podobne wyniki uzyskuje się używając do chirurgicznej rewaskularyzacji tętnicy promieniowej [17].

Procesu degeneracji przeszłę (zarówno tętnicznych jak i żylnych), mimo znacznego postępu w farmakoterapii nie udało się powstrzymać [16].

Operacyjne leczenie choroby wieńcowej pozostaje, jak wcześniej wspomniano, skutecznym sposobem terapii antydławicowej, a ponadto metaanaliza siedmiu dotychczas przeprowadzonych badań porównujących wyniki leczenia zachowawczego i CABG, wskazuje na to, że w długoterminowej obserwacji przedłuża ono życie chorym ze stabilną chorobą wieńcową – szczególnie w wybranych grupach chorych [18].

Te niewątpliwe zalety powodują, iż, szczególnie po wprowadzeniu wcześniej opisanych innowacyjnych technik chirurgicznych oraz znacznego polepszenia terapii okołoperacyjnej, CABG jest atrakcyjną metodą leczniczą dla chorych ze stabilną dusznicą bolesną.

2.2.2. Angioplastyka tętnic wieńcowych

Angioplastykę tętnic wieńcowych do praktyki klinicznej wprowadził Andreas Grüntzig, który po raz pierwszy wykonał tę procedurę w roku 1977. Technika tego zabiegu polega na wprowadzeniu do tętnicy wieńcowej przez specjalny cewnik prowadzący, cewnika zakończonego balonem, który po umieszczeniu w miejscu zwężenia zostaje rozprężony pod ciśnieniem kilku – kilkunastu atmosfer w celu mechanicznego poszerzenia naczynia wieńcowego. Sposób wykonania tego zabiegu w swojej istocie nie zmienił się od tego czasu.

Ilość wykonywanych zabiegów od lat 70-tych ubiegłego wieku ciągle rośnie. W roku 2001 odnotowano w Europie ponad 1.8 mln koronarografii i ponad 615 tys. zabiegów angioplastyki wieńcowej. Wśród krajów Europy Wschodniej najwyższy przyrost wykonywanych procedur odnotowano w Polsce (724/milion mieszkańców) [19]. W 2006 roku w Stanach Zjednoczonych wykonano 1.3 mln zabiegów PTCA [9]. Ostatnie polskie dane z 2007 roku mówią o 84 tysiącach wykonanych zabiegów przezskórnej rewaskularyzacji wieńcowej, co daje ok. 2200 angioplastyk na milion mieszkańców [20].

Swoją wysoką pozycję w terapii choroby wieńcowej PTCA zawdzięcza niewielkiemu odsetkowi powikłań okołoproceduralnych oraz niskiej śmiertelności. Istotne komplikacje zdarzają się w ok. 2 % przypadków [21]. Do możliwych powikłań należą: najczęściej występujące – powikłania miejscowe (krwiaki), incydenty neurologiczne, zawał serca, zgon, nefropatia wywołana środkiem kontrastującym oraz konieczność wykonania ratunkowego zabiegu CABG [19].

Opisywana metoda ma jednak również swoje ograniczenia. Należą do nich: restenoza (nawrót zwężenia w poszerzonym miejscu), ostre zamknięcie naczynia w czasie lub w krótkim okresie po zabiegu, niezadowalające wyniki w leczeniu starych okluzji naczyń wieńcowych oraz rozsiaanych zmian miażdżycowych [22].

Z biegiem lat, wprowadzano do leczenia nowe urządzenia, techniki i leki w okołoproceduralnej terapii farmakologicznej, które miały za zadanie poprawić wyniki przezskórnej rewaskularyzacji. Zabiegi te zyskały miano przezskórnych interwencji wieńcowych (Percutaneous Coronary Interventions - PCI) i obecnie obejmują: angioplastykę tętnic wieńcowych (Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty - PTCA), angioplastykę balonem tnącym, laserową angioplastykę balonową, implantację stentu, stenty uwalniające leki (DES – Drug Eluting Stents), wewnątrzwieńcową brachyterapię, kierunkową aterektomię wieńcową, aterektomię rotacyjną (rotablację), aterektomię ssącą oraz trombektomię [23].

Wyniki wczesne PCI wraz z wprowadzaniem wyżej wymienionych technik (w głównej mierze stentów, a także blokerów receptorów glikoproteiny płytkowej IIb/IIIa) oraz wzrostem doświadczenia operatorów ulegały znaczącej poprawie na przestrzeni lat. Działo się tak, mimo iż zabiegi te są przeprowadzane u pacjentów o coraz wyższym ryzyku [24]. Obecnie ok. 90-99% zabiegów kończy się sukcesem angiograficznym przy śmiertelności nieprzekraczającej 0.5-1.4%, częstości okołoproceduralnych zawałów serca od 1-3% i konieczności wykonania pilnego zabiegu CABG w ok. 0.2-3% przypadków [25].

Mimo znaczącej poprawy wyników wczesnych po zabiegach PCI, nie obserwujemy tak dużej poprawy w obserwacji odległej. Wyniki odległe zależą w głównej mierze od występowania czynników ryzyka takich jak: zakrzepica podostra i odległa, restenoza, zła funkcja lewej komory, rozległość zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych, cukrzyca, wiek pacjenta. 10-letnie przeżycie w grupie osób leczonych PTCA wynosi ok. 90% (95% u chorych z jednonaczyniową CAD i 81% z wielonaczyniową) [26]. Rokowanie dramatycznie pogarsza obecność cukrzycy – 5-letnie przeżycie wynosi w takiej sytuacji 65.5%.

Jak wspomniano wcześniej, znaczącym ograniczeniem metody jest występowanie restenozy. Częstość jej występowania w przypadku zwykłej angioplastyki (Plain Old Balloon Angioplasty - POBA) waha się w granicach od 30% nawet do ponad 55% [27] [28]. Ilość restenoz zmniejszyła się do ok. 15-35% po wprowadzeniu do praktyki klinicznej stentów oraz niektórych nowych, wspomnianych wcześniej, technik. Nadal jednak, restenoza jest odpowiedzialna za większość powtórnych procedur rewaskularyzacyjnych (do 40 procent po 1-2 latach) po angioplastyce. Jednak nowe dane wskazują na to, że rozpowszechnione stosowanie stentów uwalniających leki spowodowało spadek ilości ponownej rewaskularyzacji w formie CABG do 8.6% oraz PCI do 12.4% po roku od PTCA [25].

Niestety, z kilku, dostępnych obecnie, badań porównujących dwie strategie leczenia stabilnej choroby wieńcowej: za pomocą PCI i optymalnego leczenia farmakologicznego, tylko badanie ACIP wykazało zmniejszenie śmiertelności w grupie PCI [29]. Badanie ACME udowodniło jedynie zmniejszenie nasilenia dolegliwości dławicowych w grupie chorych leczonych angioplastyką [30].

Należy wspomnieć, iż w badaniu AVERT w grupie PCI częściej niż w grupie leczonej zachowawczo występowały epizody niedokrwienne [31], a w badaniu RITA-2 zgon lub zakończony zgonem zawał serca występował częściej w grupie PCI [32].

Przeprowadzona metaanaliza badań randomizowanych pozwala jedynie stwierdzić, że w stabilnej chorobie wieńcowej PTCA lepiej poprawia jakość życia niż leczenie zachowawcze, natomiast nie zawierają wystarczających informacji, aby potwierdzić jej wyższość, jeżeli chodzi o zmniejszenie ilości zawałów serca i zgonów.

Zakończone niedawno badanie COURAGE (Clinical Outcome Utilizing Revascularization and Aggressive Drug Evaluation) było planowane jako największe wieloośrodkowe badanie porównujące wyniki optymalnego leczenia zachowawczego z metodami przezskórnej rewaskularyzacji w stabilnej chorobie wieńcowej. Protokół tego badania zakładał zmniejszenie globalnego ryzyka z naciskiem na modyfikację stylu życia, maksymalne leczenie hipotensyjne (wg JNC VI), hipolipemiczne (wg ATP III) oraz

przeciwdławicowe. W badaniu tym określona została redukcja zdarzeń klinicznych, jakość życia pacjentów oraz efektywność kosztowa. W badaniu nie wykazano przewagi strategii inwazyjnej nad zachowawczą w leczeniu stabilnej choroby wieńcowej. Pierwszo i drugorzędowe punkty końcowe (umieralność z jakiegokolwiek przyczyny, zawał serca niezakończony zgonem, udar mózgu) występowały z podobną częstością w obu grupach. Co prawda wśród chorych poddanych angioplastyce ilość osób bez dławicy była większa niż w grupie pacjentów leczonych jedynie farmakologicznie, ale ta różnica między grupami była niewielka. Należy jednak mieć na uwadze fakt, iż ok 30% chorych z grupy intensywnego leczenia farmakologicznego wymagało przeprowadzenia angioplastyki wieńcowej [33].

2.2.3. Restenoza

Nawrót zwężenia naczynia wieńcowego w miejscu interwencji przezskórnej, czyli restenoza, do dnia dzisiejszego stanowi znaczący problem w kardiologii inwazyjnej. Z kilku proponowanych definicji angiograficznej restenozy w niniejszej rozprawie posługuję się tą, której kryterium rozpoznania jest utrata co najmniej 50% uzyskanego wzrostu średnicy naczynia. Restenoza jest wyjątkową formą miażdżycy.

Klinicznymi wykładnikami restenozy są: nawrót dolegliwości dławicowych, zmiana ujemnego wyniku testu wysiłkowego na dodatni oraz wystąpienie zawału mięśnia sercowego z zakresu unaczynienia poszerzanej tętnicy [23]. Większość restenoz zdarza się w ciągu 3-6 miesięcy po zabiegu.

Na przestrzeni lat zmieniało się podejście do patogenezy restenozy. Ostatnie lata przyniosły nowe teorie wyjaśniające istotę restenozy. Jeżeli chodzi o zwykłą angioplastykę balonową (POBA), to przyjmuje się, że w jej przypadku do restenozy prowadzi w głównej mierze zjawisko elastycznego zapadania się światła tętnicy ("elastic recoil"). Problem ten w dużej mierze został rozwiązany poprzez wprowadzenie do praktyki klinicznej stentów.

Niestety, po implantacji stentu do tętnicy dochodzi do miejscowego procesu zapalnego, który wedle przyjmowanej obecnie teorii prowadzi do przerostu neointimy. Teoria ta wydaje się tym bardziej akceptowalna, że nasilenie procesu zapalnego koreluje ze stopniem przerostu neointimy, a zastosowanie inhibitorów niektórych ogniw łańcucha reakcja zapalnej w miejscu implantacji stentu w badaniach na zwierzętach zmniejszało rozrost neointimy.

W miejscu implantacji stentu, gdzie dochodzi do zderzenia śródbłonka, rozerwania błony elastycznej wewnętrznej oraz dyssekcji błony środkowej pojawiają się agregaty płytkowe, gdyż dochodzi do odsłonięcia kolagenu i innych składników ściany tętnicy. W obrębie tych

agregatów płytkowych pojawiają się po kilkudziesięciu godzinach komórki ostrej reakcji zapalnej (leukocyty wielojądrzaste). Ich ilość stopniowo rośnie do 11 dnia po implantacji stentu i potem spada do zera w 4 tygodniu po implantacji stentu. Pojawianie się komórek reakcji zapalnej powodowane jest uwalnianiem przez aktywowane płytki wielu aktywnych substancji np. czynników wzrostu i interleukin oraz ekspresji cząstek adhezyjnych.

W przeciwieństwie do leukocytów wielojądrzastych, komórki charakterystyczne dla przewlekłego stanu zapalnego (makrofagi, limfocyty T oraz rzadziej limfocyty B) w miejscu implantacji stentu obecne są w czasie wszystkich faz procesu gojenia.

Wśród aktywowanych komórek znajdują się także komórki mięśni gładkich, które poprzez uruchomienie genów regulujących podziały komórkowe zaczynają proliferować. Proliferacja ta jednak nie jest nasiloną i zasadniczo przyjmuje się, że to jednak migracja komórek mięśni gładkich z blaszki miażdżycowej lub błony środkowej, a następnie odkładanie się macierzy zewnątrzkomórkowej jest czynnikiem powodującym restenozę w stencie u ludzi. Macierz zewnątrzkomórkowa stanowi ok. 40% neointymy. Początkowo składa się ona z proteoglikanów i kolagenu typu III, który stopniowo zastępowany jest kolagenem typu I [34].

Skuteczność terapeutyczną PTCA można oceniać w dwojaki sposób: angiograficznie i klinicznie. Jeśli chodzi o ocenę angiograficzną to obecnie wykorzystuje się koronarografię z wykorzystaniem komputerowej ilościowej analizy angiogramu oraz ultrasonografię wewnątrznacyniową (IVUS).

Restenoza angiograficzna w ujęciu angiograficznym nadal jest ważnym punktem końcowym w badaniach klinicznych. Badanie koronarograficzne pozwala na ocenę dynamiki zmian przekroju światła dokładnie w miejscu poszerzenia naczynia wieńcowego. Zastosowanie jednak tylko angiograficznych punktów końcowych niesie ze sobą pewnego rodzaju ograniczenie: restenoza obecna w ocenie angiograficznej nie zawsze koreluje ze stanem klinicznym chorych po PCI, ani z koniecznością powtórnej rewaskularyzacji. Tzw. objawowa restenoza występuje u ok. 33% chorych po PTCA [35]. Poza tym zarówno badanie koronarograficzne, jak i IVUS związane są z wykonaniem inwazyjnej procedury, co niesie ze sobą ryzyko pewnych, wcześniej już wymienionych komplikacji. Ponadto wewnątrznacyniowa ultrasonografia wiąże się z dużymi kosztami, co zmniejsza jej dostępność dla pacjentów.

Kliniczna ocena objawów restenozy, w porównaniu do powyższych metod jest relatywnie tania i nie wiąże się z ryzykiem procedury inwazyjnej. Mimo ograniczenia tej metody, jakim jest możliwość wystąpienia klinicznych objawów niedokrwienia mięśnia

sercowego nie związanych z faktyczną restenozą, lecz np. rozwojem zmiany miażdżycowej w innym naczyniu wieńcowym, jest ona powszechnie wykorzystywana w ocenie skuteczności zabiegów angioplastyki. Należy podkreślić, iż z punktu założeń terapeutycznych, jak i samego pacjenta, ograniczenie to, ma niewielkie znaczenie. Dlatego w niniejszej pracy doktorskiej posługiwałem się przede wszystkim klinicznymi wykładnikami restenozy.

Ryzyko restenozy zależy od czynników klinicznych (cukrzyca, niestabilna choroba wieńcowa, ostry zawał serca, wcześniej występująca restenoza), anatomicznych (całkowite zamknięcie światła naczynia, zmiana w proksymalnym odcinku gałęzi przedniej zstępującej lewej tętnicy wieńcowej, mały kaliber naczynia wieńcowego, długie zmiany i zmiany w graftach żylnych) i proceduralnych (pozabiegowa najmniejsza średnica światła tętnicy, stopień zwężenia naczynia wieńcowego). Pewną rolę może także odgrywać narażenie na czynniki zakaźne.

Jeżeli chodzi o restenozę w stencie, to za czynniki ryzyka uważa się wiek, dodatni wywiad w kierunku cukrzycy, długość zmiany/długość implantowanego stentu, mała pozabiegowa najmniejsza średnica światła tętnicy, implantacja stentu w rekanalizowanym przewlekle zamkniętym segmencie naczynia, w miejscu bifurkacji lub ostium naczynia oraz zmiana w gałęzi przedniej zstępującej lewej tętnicy wieńcowej [36].

Wprowadzenie do leczenia stentów powlekanych lekami cytostatycznymi i przeciwzapalnymi, spowodowało ograniczenie występowania restenozy w natywnym naczyniu [37], jak i restenozy w stencie [38].

2.2.4. Porównanie wyników leczenia za pomocą PTCA i CABG

Od momentu wprowadzenia do terapii chorych z CAD angioplastyki wieńcowej, badacze starają się porównać tę metodę z CABG. Niewątpliwą zaletą i korzyścią wynikającą z zastosowania PTCA jest uniknięcie znieczulenia ogólnego, torakotomii, krążenia pozaustrojowego, powikłań neurologicznych i przedłużonej rekonwalescencji. Przeprowadzenie PTCA i ewentualnych kolejnych angioplastyk jest względnie łatwiejsze niż CABG, a w sytuacjach naglących PTCA ma znaczącą przewagę.

Z drugiej strony, rewaskularyzacja za pomocą CABG jest „trwalsza” i pełniejsza – w tym przypadku morfologia zmian miażdżycowych odpowiedzialnych za zwężenie/zamknięcie naczynia nie gra tak dużej roli, jak w przypadku PTCA. [39]

Analizując wszystkie badania porównujące PTCA z CABG należy wziąć pod uwagę, że okres obserwacji w tych badaniach jest zbyt krótki jeśli chodzi o pacjentów z grupy

rewaskularyzowanej chirurgicznie i nie obejmuje dużej części komplikacji i/lub zgonów związanych z degeneracją graftów.

Zostało przeprowadzonych kilka randomizowanych badań, które obecnie są o tyle nieaktualne, że zostały przeprowadzone w czasie, kiedy w powszechnym użyciu nie było stentów, ani leków z grupy inhibitorów receptora glikoproteiny płytkowej IIb/IIIa, czy też bezpośrednich inhibitorów trombiny. W badaniach tych u pacjentów poddanych PCI uzyskiwano podobną śmiertelność i częstość zawałów, jak u chorych leczonych za pomocą CABG, jednakże wymagali oni częstszych ponownych procedur rewaskularyzacyjnych. Większość rewaskularyzacji spowodowana była występowaniem restenozy i niekompletnej rewaskularyzacji [40]. Wyniki te zostały potwierdzone w badaniu SYNTAX – pierwszym randomizowanym badaniu porównującym efekty leczenia za pomocą PTCA z użyciem stentów uwalniających leki oraz za pomocą CABG [41].

Badania opublikowane w ostatniej dekadzie pokazują także, że wyniki odległe w grupach chorych zarówno leczonych za pomocą PTCA lub CABG są podobne – śmiertelność i ilość zawałów nie różniły się w tych badaniach istotnie, z tym, że ilość powtórnych rewaskularyzacji w grupie PCI znacznie się zmniejszyła na przestrzeni ostatnich lat.

Jak wykazano w badaniu ARTS (Arterial Revascularization Therapies Study) po roku od wykonania procedury ilość zgonów, udarów mózgu lub zawałów serca była podobna w obu grupach. Jednak u chorych leczonych PTCA istotnie częściej zachodziła konieczność ponownej rewaskularyzacji. Po roku w grupie poddanej stentowaniu naczyń wieńcowych 73.8% chorych nie doznało żadnego incydentu sercowo-naczyniowego. W grupie CABG odsetek ten wynosił 87.8%. Badanie to, wykazało także, że PTCA z implantacją stentu jest korzystniejsze ekonomicznie niż CABG [42].

Badanie ERACI II wykazało w krótkiej, bo rocznej, obserwacji lepsze wyniki w grupie PTCA – częstość zgonów oraz zawałów serca była istotnie niższa, niż w grupie CABG. Nadal jednak, podobnie jak w innych badaniach, chorzy ci wymagali częstszej ponownej procedury rewaskularyzacyjnej [43].

W badaniu SoS (Stent or Surgery Trial) występowanie złożonego punktu końcowego (śmierć lub niezakończony zgonem zawał serca) było podobne w obu grupach. Jednak ogólna śmiertelność była wyższa w grupie PTCA (spowodowana w głównej mierze zgonami z powodu nowotworu). W tym badaniu także częstsza rewaskularyzacja była konieczna w grupie chorych leczonych za pomocą angioplastyki, jakkolwiek jej częstość była znacznie niższa niż w poprzednich badaniach [44].

Po 2 latach obserwacji, w badaniu przeprowadzonym przez Ungera i współpracowników w 2001 roku w grupie ponad 1200 pacjentów, występowanie zgonów, udarów mózgu lub zawałów serca było podobne w obu grupach. Jednak częstość incydentów sercowo-naczyniowych była większa w grupie PTCA, niż CABG (84.8% vs 69.5%). CABG było także skuteczniejsze w zwalczaniu objawów dusznicowych [45].

Przeprowadzone w Stanach Zjednoczonych i Kanadzie badanie BARI (Bypass Angioplasty Revascularization Investigation) jest uważane za jedyne, które ma wystarczającą moc statystyczną, aby wykryć istotną różnicę w śmiertelności. W 7-letniej obserwacji śmiertelność w obu grupach była podobna [46].

Istnieją także nieliczne doniesienia, które wykazują, że śmiertelność w grupie CABG jest niższa, niż w grupie PTCA [47].

Metaanaliza 13 badań porównujących PTCA i CABG nie wykazała różnic w śmiertelności po ośmiu latach obserwacji. We wczesnych badaniach, w których użycie stentów było niewielkie lub nie używano ich wcale, wyniki przemawiały na korzyść CABG. W niedawno publikowanych badaniach z użyciem stentów, wyniki w obu grupach nie różniły się istotnie [48] [49].

Ostatnio opublikowane wnioski z badania ARTS II, w którym porównywano wyniki rewaskularyzacji za pomocą CABG i PTCA z użyciem stentów powlekanych sirolimusem w grupach chorych z rozpoznaną cukrzycą i bez cukrzycy, dowodzą że zastosowanie stentów uwalniających leki jest bezpieczniejsze i daje lepsze wyniki niż stosowanie zwykłych stentów metalowych. Wyniki tego badania pozwalają (mimo małej grupy badanej) także sądzić, że stosowanie DES u chorych z wielonaczyniową chorobą wieńcową, może za jakiś czas stać się bezpieczną i atrakcyjną alternatywą dla CABG [50].

Ze względu na coraz częstsze wykorzystywanie stentów uwalniających leki (DES – Drug Eluting Stents) i coraz agresywniejszą farmakoterapię potrzebne są kolejne badania w celu porównania efektów odległych tych dwóch sposobów leczenia (szczególnie dotyczy to pacjentów z cukrzycą) [36].

Oprócz czynników składających się na sukces odległy procedury takich jak: śmiertelność czy też częstość incydentów klinicznych (zawał serca, udar mózgu, potrzeba kolejnej rewaskularyzacji), ważną rolę odgrywa jakość życia chorych po zabiegu oraz ekonomika leczenia. W ostatnio opublikowanej analizie kosztów i jakości życia chorych w długoterminowej obserwacji (10-12 lat) stwierdzono brak istotnych różnic pomiędzy PCI i CABG [51].

Ze względu na najszersze zastosowanie spośród przezskórnych interwencji wieńcowych, PTCA z implantacją stentu/stentów, procedura ta będzie przedmiotem tej pracy doktorskiej.

Wyniki badania SYNTAX sugerują, że obecność złożonych zmian w naczyniach wieńcowych (skutkująca wysoką wartością współczynnika SYNTAX), wiąże się z wyższym ryzykiem suboptymalnego wyniku zabiegu PTCA. W takim przypadku u pacjenta powinno się wykonać zabieg pomostowania aortalno-wieńcowego. W odwrotnej sytuacji, kiedy zmiany w naczyniach wieńcowych są mniej złożone (t.j. współczynnik SYNTAX jest niski), powinno się rozważyć korzyści i ryzyko każdej z procedur i wówczas wybrać jedną z nich. Niezależnie od wybranej procedury, chorzy powinni otrzymywać optymalną farmakoterapię, włączając leczenie przeciwplatekcyjne, statynę oraz inhibitor enzymu konwertującego jeśli chory tego wymaga [52].

2.3. Czynniki genetyczne w chorobie wieńcowej

W etiopatogenezie CAD, jak już wcześniej wspomniano, oprócz tzw. dużych czynników ryzyka biorą udział czynniki genetyczne. W chwili obecnej znanych jest wiele genów kandydatów - są to geny, których warianty polimorficzne mogą być związane z występowaniem danej choroby. Szczególną uwagę naukowców zwracają geny, których produkty białkowe biorą udział w:

- procesach zapalenia i migracji komórek układu odpornościowego,
- procesach krzepnięcia i trombolizy,
- procesach proliferacji fibroblastów i komórek mięśniówki gładkiej naczyń
- łańcuchu przekazywania sygnałów w komórce,
- metabolizmie lipidów.

Pod uwagę brane są również polimorfizmy białek cytoszkieletu, czynników wazoaktywnych oraz układu renina-angiotensyna-aldosteron (RAAS).

Wyżej wymienione geny można podejrzewać także o związek z restenozą i rokowaniem pacjentów poddanych PCI.

2.4. Polimorfizmy wybranych genów jako potencjalne czynniki rokownicze po PCI

2.4.1. Polimorfizm *insercyjno/delecyjny* genu enzymu konwertującego angiotensynę I (*I/D ACE*)

Przypuszcza się, że bardzo ważną rolę w patogenezie wielu schorzeń układu sercowo-naczyniowego odgrywa układ renina-angiotensyna-aldosteron.

Kluczowym ogniwem tego układu jest enzym konwertujący angiotensynę I (ACE). Enzym ten, to peptydaza odpowiedzialna, za konwersję angiotensyny I do angiotensyny II (AT II). Angiotensyna II jest silnym wazokonstryktorem i czynnikiem promującym wzrost komórek mięśniówki gładkiej naczyń oraz czynnikiem protrombotycznym [53]. Poza tym ACE jest enzymem rozkładającym bradykininę – silny związek rozkurczający naczynia oraz wywierający działanie przeciwzakrzepowe [54].

Angiotensyna II – produkt ACE, wywiera m.in. działanie inotropowo dodatnie na mięsień sercowy i jest odpowiedzialna za wzrost komórek mięśniowych w sercu oraz ich proliferację [53], co prowadzi do remodellingu myocardium.

Ponadto wykazano antydiuretyczne działanie angiotensyny II poprzez zwiększenie wydzielania hormonu antydiuretycznego przez przysadkę. W cewkach nerkowych AT II zwiększa resorbcję sodu. Związek ten odpowiedzialny jest także za aktywację układu adrenergicznego.

Gen enzymu konwertującego angiotensynę I znajduje się na 17 chromosomie. Składa się on z 26 eksonów i 25 intronów i ma długość 21 kb [55].

Od chwili odkrycia polimorfizmu insercyjno delecyjnego genu *ACE*, polegającego na obecności (allel *I*) lub braku (allel *D*) sekwencji repetytywnej *alu* o długości 287 bp (par zasad) w obrębie 16 intronu, prowadzono badania mające na celu zidentyfikowanie ew. związków między tymże polimorfizmem a efektami patofizjologicznymi ACE (zarówno *in vitro* jak i *in vivo*) oraz chorobami układu sercowo-naczyniowego.

Dotychczas wykazano, iż obecność allela *D* jest związana z większą aktywnością enzymu konwertującego angiotensynę I, [56] oraz może być czynnikiem ryzyka choroby wieńcowej, zawału mięśnia sercowego, nagłej śmierci sercowej, nadciśnienia tętniczego, a także kardiomiopatii. Ponadto stwierdzono częstsze występowanie genotypu *DD* u osób z nadwagą oraz otyłością brzuszna [57-61].

Wyniki wcześniejszych badań prowadzonych w I Katedrze i Klinice Kardiologii wskazują na związek polimorfizmu genu *ACE* z przebudową lewej komory po zawale serca,

sugerując korelację między wzrostem objętości końcoworozkurczowej a występowaniem wariantu polimorficznego *DD* [62].

Należy zwrócić uwagę na to, że niektóre badania nie potwierdzały powyższych związków [63].

Mimo, że opisywano wpływ podawania inhibitorów enzymu konwertującego na zmniejszenie ryzyka wystąpienia niewydolności serca, zawału serca i śmierci z przyczyn sercowo-naczyniowych (badania SAVE, SOLVD, HOPE, EUROPA), to nie wszystkie badania potwierdziły korzystne oddziaływanie ACEI na zmniejszenie występowania zjawiska restenozy u chorych po PCI. W populacji europejskiej badania MERCATOR i MARCATOR wykazały, że cilazapril nie zmniejsza ryzyka restenozy. Podobne wyniki uzyskano w badaniach, które sprawdzały wpływ innych inhibitorów enzymu konwertującego na zjawisko restenozy [64]. Jednak w populacji japońskiej jedno z badań wykazało znaczącą redukcję częstości restenoz w grupie chorych zażywających ramipril [65]. Na szczególną uwagę zasługuje jednak fakt, iż u chorych po angioplastyce, u których stosowano ACEI lub blokery receptora angiotensyny II restenoza w stencie występowała częściej w grupie homozygot *DD* [66].

2.4.2. Polimorfizm *A1166C* genu receptora dla angiotensyny II typu 1 (*A1166C AT1R*)

Z opisanych kilku polimorfizmów genu receptora dla angiotensyny II typu 1, który znajduje się w niekodującym regionie na chromosomie 3, największe zainteresowanie badaczy budzi polimorfizm polegający na zamianie adeniny na cytozynę w pozycji 1166 (*A1166C*). W populacji opisano występowanie trzech genotypów: heterozygot *AC* i homozygot: *AA* i *CC*.

Jak wiadomo Angiotensyna II wywiera większość swoich działań właśnie poprzez receptor dla AT II typu 1. Ponadto podejrzewa się, że *AT1R* powoduje regulację „w górę” *PAI-1* (inhibitora aktywatora plazminogenu), a także aktywację i agregację płytek krwi, co powoduje zmniejszenie właściwości przeciwzakrzepowych śródbłonna [67].

Od czasu opisanego wymienionego polimorfizmu w 1994 roku przez Bonnardeux oraz jego związku z występowaniem nadciśnienia tętniczego [68], stwierdzono w niektórych badaniach fakt współwystępowania allelu *C* ze zwiększoną sztywnością aorty, zwiększoną masą lewej komory ze skurczem naczyń wieńcowych oraz występowaniem choroby wieńcowej i zawału serca [69-73]. Postuluje się także związek nosicielstwa allelu *C* z predyspozycją do występowania złośliwych arytmii komorowych [74].

Aby odkryć ewentualne implikacje kliniczne związane z polimorfizmami układu RAAS badano wpływ stosowania blokerów receptora AT II na wyniki terapii w wybranych jednostkach chorobowych. W badaniu SILVHIA największą redukcję masy mięśnia lewej komory u chorych z przerostem lewej komory zażywających bloker receptora AT II uzyskano u heterozygot *AC* [75]. Niestety, dotychczasowe wyniki badań dotyczące związku polimorfizmu *A1166C* genu receptora *ATI* z wybranymi jednostkami chorobowymi nie są jednoznaczne.

2.4.3. Polimorfizm *M235T* genu angiotensynogenu (*M235T AGT*)

W niniejszej pracy badałem związek polimorfizmu genu angiotensynogenu polegający na zamianie tyminy na cytozynę w kodonie 235 w egzonie 2 genu *AGT*. Ta substytucja powoduje w efekcie zamianę metioniny na treoninę w łańcuchu białkowym.

Gen angiotensynogenu reguluje ekspresję angiotensynogenu – polipeptydu syntetyzowanego w wątrobie, który następnie przy udziale reniny przekształcany jest w angiotensynę I [76]. Enzym konwertujący angiotensynę (ACE), jak wcześniej opisano, dokonuje konwersji angiotensyny I w angiotensynę II. W populacji opisano występowanie trzech genotypów *M235T* genu angiotensynogenu: heterozygot *MT* i homozygot: *TT* i *MM*.

Sugeruje się związek nosicielstwa dwóch alleli *T* tego genu z wyższymi od 15 do 40% poziomami angiotensynogenu w osoczu od homozygot *MM*. Związek ten obserwowano zarówno u osób z nadciśnieniem jak i u normotoników. Allel *T* jest także wiązany z występowaniem samoistnego nadciśnienia tętniczego (w tym także u chorych młodych), przerostem lewej komory, zaawansowaniem miażdżycy tętnic wieńcowych oraz występowaniem ostrych zespołów wieńcowych w tym zawału serca [77-80]. Być może ma to związek modulacją czynności układu autonomicznego - u homozygot *TT* stwierdzono większą aktywność układu współczulnego w porównaniu do nosicieli allelela *M* [81]. Ryzyko wystąpienia zawału serca było większe również w grupie chorych zażywających inhibitory enzymu konwertującego [82]. Postuluje się również związek nosicielstwa allelela *T* z nadwagą [83] oraz ze zwiększoną sztywnością tętnic u chorych z nadciśnieniem tętniczym [84].

W niektórych badaniach sugeruje się związek odpowiedzi na leczenie z polimorfizmem *M235T* angiotensynogenu. W badaniu SILVHIA nosiciele allelela *T* odnosili większe korzyści ze stosowania beta-blokerów jeśli chodzi o obniżenie ciśnienia tętniczego [85]. Stosowanie blokerów receptora angiotensyny II w tym badaniu przynosiło większą redukcję masy lewej komory u hipertoniców [86].

Istnieją również badania, w których nie stwierdzono wpływu opisywanego polimorfizmu np. na dobowy profil ciśnienia czy też morfologię lewej komory [63].

2.4.4. Polimorfizm *C344T* genu syntazy aldosteronu (*C344T CYP11B2*)

Aldosteron to mineralokortykoid, który kontroluje poziom sodu oraz objętość płynu wewnątrznaczyniowego, w ten sposób reguluje ciśnienie tętnicze [87]. Ponadto aldosteron bezpośrednio wpływa na mięsień sercowy powodując m. in. jego przerost i zwłóknienie poprzez syntezę kolagenu i proliferację fibroblastów [88].

Syntaza aldosteronu odpowiedzialna jest za przekształcenie 11-deoxykortykosteronu w aldosteron. Proces ten zachodzi w komórkach strefy kłębkowatej nadnerczy. W 1995 roku White i Slutsker donieśli o istnieniu kilku polimorfizmów w obrębie genu syntazy aldosteronu, który znajduje się na chromosomie 8q22. Jeden z wariantów polimorficznych tego genu (*CYP11B2*) polega na zamianie cytozyny na tyminę w regionie promotorowym genu w pozycji 344.

Wydaje się, że wymieniony polimorfizm ma znaczenie funkcjonalne. Istnieją doniesienia o słabszej odpowiedzi na stymulację hormonem adrenokortykotropowym u homozygot *CC* w porównaniu do homozygot *TT* [89]. Wydalanie aldosteronu z moczem było istotnie większe u nosicieli allele *T* niż u homozygot *CC* [90]. Mimo prowadzonych badań nadal nie jest pewne w jaki sposób opisywany polimorfizm wpływa na biosyntezę aldosteronu na poziomie molekularnym. Jak wiadomo ma on wpływ na łączenie się czynnika transkrypcyjnego SF-1 do promotora genu [91]. W badaniach in-vitro czynnik SF-1 łączy się blisko pięciokrotnie silniej do allele *-344C* niż do allele *-344T*, jednak nie miało to wpływu na szybkość transkrypcji genu [92].

Brand jako pierwsza doniosła o związku polimorfizmu *C344T CYP11B2* z nadciśnieniem tętniczym w 1998 roku. W dotychczas przeprowadzonych badaniach uzyskiwano zmienne wyniki, jednak większość z nich wiąże nosicielstwo allele *T* z występowaniem nadciśnienia [90]. Ponadto u osób homozygotycznych pod względem allele *T* obserwowano wyższe ciśnienie tętnicze, niż u homozygot *CC* [93]. Allel *C* natomiast wiązany jest również ze zwiększoną masą i rozmiarami lewej komory i zmniejszoną czułością baroreceptorów u zdrowych ludzi [94]. Stanowią one czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego. Badanie przeprowadzone w grupie mężczyzn zakwalifikowanych do badania Helsinki Heart Study wykazały związek allele *C* ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia zawału serca u chorych z dyslipidemią i obciążonych nałogiem palenia tytoniu [95]. W

badaniu A-HeFT, w populacji afro-amerykanów cierpiących na niewydolność serca stwierdzono gorszą prognozę u nosicieli allele *C* [96]. Istnieją także przesłanki ku wiązaniu opisywanego polimorfizmu z większą aktywnością układu współczulnego [97].

W badaniu SILVHIA sugeruje się związek odpowiedzi na leczenie z opisywanym polimorfizmem. Pacjenci z nadciśnieniem, homozygotyczni pod względem allele *T* odnosili większe korzyści ze stosowania blokera receptora ATII jeśli chodzi o obniżenie ciśnienia tętniczego – polimorfizm ten nie był związany z reakcją na leczenie beta-blokerem [98]. U nosicieli allele *T* lepszy był również efekt stosowania inhibitora enzymu konwertującego [99].

2.4.5. Interakcje między wariantami polimorficznymi układu renina-angiotensyna-aldosteron

Z powyższego wynika, że układ renina-angiotensyna-aldosteron jest zaangażowany w patogenezę schorzeń układu sercowo-naczyniowego. Jak można się spodziewać nie jest to tylko wynikiem ekspresji jednego genu, ale wynikiem interakcji między wieloma genami, a także wpływem czynników zewnętrznych. Istnieje wiele badań, które potwierdzają istnienie wzajemnego związku pomiędzy wariantami polimorficznymi układu RAAS a ryzykiem schorzeń układu krążenia.

Znane są doniesienia mówiące o tym, istnieje silna interakcja pomiędzy wariantami polimorficznymi genu *I/D ACE* i *A1166C AT1R* mająca wpływ na ryzyko zachorowania na zawał serca, na częstsze występowanie choroby wieńcowej oraz większe zaawansowanie zmian miażdżycowych w naczyniach wieńcowych w przebiegu choroby niedokrwiennej serca. Interakcja pomiędzy tymi polimorfizmami wśród chorych z CAD i dysfunkcją lewej komory może mieć związek z występowaniem złośliwych arytmii komorowych [100-102].

Wyniki badań pochodzących z naszego ośrodka sugerują interakcję między wspomnianymi polimorfizmami z niższą frakcją wyrzutową i powiększeniem wymiarów lewej komory u chorych z rozpoznaną angiograficznie chorobą wieńcową [103]. U chorych cierpiących na choroby układu sercowo-naczyniowego stwierdzono wspólny efekt polimorfizmu genu *ACE* oraz genu *AGT* na przerost mięśnia sercowego [104].

Staessen donosił o interakcji między polimorfizmami genów enzymu konwertującego, syntazy aldosteronu oraz adducyny w populacji europejskiej oraz azjatyckiej [105] [96].

Szersze badanie, w którym genotypowano osoby pod względem polimorfizmów wszystkich ogniw łańcucha układu RAA, wykazało iż nosiciele określonej kombinacji

niektórych wariantów polimorficznych genów AGT, AT1R, CYP11B2 i ACE mieli znacznie większe prawdopodobieństwo rozwinięcia nadciśnienia tętniczego [106].

Wydaje się także, że zachodzi interakcja pomiędzy polimorfizmem M235T genu angiotensynogenu, polimorfizmem *I/D* genu enzymu konwertującego angiotensynę oraz polimorfizmem *A1166C* genu receptora dla angiotensyny II, skutkująca modyfikacją ryzyka wystąpienia nadciśnienia tętniczego, a także choroby wieńcowej i zawału serca [107-109].

Istnieją doniesienia o wpływie polimorfizmów genów ACE, AGT oraz syntazy aldosteronu na poziom aldosteronu w odpowiedzi na dożylny wlew angiotensyny II [110].

Ponadto postuluje się większy wpływ polimorfizmu *M235T* genu angiotensynogenu na aktywność układu współczulnego w obecności allele *D* genu ACE [81].

2.4.6. Polimorfizm *Leu33/Pro* genu glikoproteiny płytkowej IIIa (*PLA1/PLA2 GPIIIa*)

Jak wiadomo, płytki krwi zaangażowane są zarówno w patogenezę miażdżycy naczyń wieńcowych, ostrych zespołów wieńcowych jak i reokluzji naczyń po zabiegu PCI.

Glikoproteina płytkowa IIb/IIIa, będąca receptorem błonowym dla fibrynogeny i czynnika von Willebranda, ma kluczowe znaczenie w procesie agregacji płytek. Istnieją badania dowodzące, że zwiększona aktywacja płytek krwi jest związana ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia choroby wieńcowej i jej powikłań [111]. Związane jest to najprawdopodobniej z tym, że aktywowane płytki wydzielają całą gamę czynników wykazujących właściwości mitogenne i chemotaktyczne takie jak: PDGF i TGF- β , które mogą odgrywać rolę w proliferacji komórek mięśniówki gładkiej i infiltracji monocytów, co prowadzi do postępu miażdżycy.

Dotychczas zidentyfikowano kilka polimorfizmów w zakresie genu glikoproteiny płytkowej IIb/IIIa. Polimorfizm *PLA*, dotyczący glikoproteiny IIIa, polega na występowaniu dwóch odmian glikoproteiny: *PLA1* z leucyną w pozycji 33 łańcucha aminokwasowego oraz *PLA2* z proliną w opisywanej pozycji [112]. U podstaw tego polimorfizmu leży substytucja tymidyny na cytozynę w pozycji 1565 w drugim egzonie genu GP IIIa, który znajduje się na chromosomie 17.

W badaniach *in vitro* wykazano, że płytki krwi nosiciele allele *PLA2* wymagają niższych stężeń epinefryny i ADP do wywołania agregacji niż u homozygot *A1A1* [113]. Frey i wsp. wykazali synergistyczny wpływ polimorfizmu *C825T* genu podjednostki beta-3 białka G i genu glikoproteiny płytkowej IIb/IIIa na zwiększenie zdolności agregacyjnych płytek

krwi [114]. Stwierdzono również, iż płytki *PLA2* wiążą więcej fibrynogenu niż płytki *PLA1A1* [115]. Ponadto wykazano istotną interakcję między poziomem fibrynogenu a nosicielstwem allele *A2* w determinowaniu ryzyka sercowo-naczyniowego u osób z chorobą wieńcową [116].

Istnieją także doniesienia o związku allele *PLA2* opisywanego polimorfizmu z występowaniem zawału mięśnia sercowego, a także z zaawansowaniem choroby wieńcowej [117], choć istnieją analizy w których uzyskano wyniki wiążące allel *A1* z tymi jednostkami chorobowymi [118]. Postuluje się także związek nosicielstwa tego allele z występowaniem okluzji graftów żylnych, zawału mięśnia sercowego oraz śmierci u chorych po CABG [119]. Ponadto badania przeprowadzone przez fińskich uczonych wykazały związek polimorfizmu *PLA* nie tylko z występowaniem choroby wieńcowej, ale wyniki ich pracy, przeprowadzonej w dużej grupie zmarłych nagle mężczyzn, wskazują na to, że u osób które posiadają allel *A2* częściej występują niestabilne blaszki miażdżycowe, natomiast u homozygot *A1A1* blaszki miażdżycowe częściej mają charakter stabilny [120]. W badaniu REGRESS nosicielstwo allele *A2* wiązało się z częstszym występowaniem incydentów sercowo-naczyniowych. Podobne wyniki uzyskano u palaczy rekrutowanych z chorych biorących udział w badaniu MASS II [121].

W kilku przeprowadzonych badaniach stwierdzono także związek nosicielstwa allele *A2* z występowaniem udaru mózgu [122].

Częstsze występowanie restenozy oraz większe zaawansowanie miażdżycy, może być związane z faktem, iż u nosicieli allele *PLA2* komórki wykazywały większą aktywność migracyjną w kierunku fibrynogenu i czynnika von Hillebranda co może mieć znaczący wpływ na migrację komórek komórek mięśniówki gładkiej i gojenie się uszkodzonego naczynia [123]. Wpływ na powikłania miażdżycy może mieć również związek allele *A2* z upośledzonym działaniem kwasu acetylosalicylowego na płytki [124]. Sugeruje się nawet, że u homozygot *A2A2* terapia przeciwplatekowa powinna być oparta na antagonistach ADP, jakkolwiek u nosicieli allele *A2* nawet po zastosowaniu 300 mg kłopidogrelu aktywność płytek była istotnie większa niż u homozygot *A1A1* [125]. Powyższe fakty mogą świadczyć o konieczności identyfikowania genotypu u chorych w celu dobrania odpowiedniego leku oraz dawki, aby uzyskać lepsze działanie przeciwplatekowe, szczególnie u osób z ostrymi zespołami wieńcowymi.

Należy zwrócić jednak uwagę na to, że istnieją także badania, w których związek polimorfizmu genu glikoproteiny płytkowej IIb/IIIa nie występował.

2.4.7. Polimorfizm *G460W* genu alfa-adducyny (*G460W ADD1*)

Adducyna jest białkiem cytoszkieletu, zbudowanym z podjednostki α i β lub α i γ . Podjednostki te są do siebie w dużym stopniu podobne, zarówno w zakresie sekwencji aminokwasów jak i organizacji przestrzennej domen. Podjednostka α występuje w prawie wszystkich typach komórek, podczas gdy występowanie podjednostek β i γ zależy od rodzaju tkanki [126]. Adducyna odgrywa ważną rolę w determinowaniu kształtu komórki oraz w regulowaniu transportu błonowego jonów poprzez zaangażowanie w funkcję pompy Na/K. Jest ona także zaangażowana w połączenia międzykomórkowe i przekazywanie sygnału. Gen kodujący podjednostkę α znajduje się na ramieniu krótkim chromosomu czwartego (4p16) [127].

Polimorfizm *G460W* genu α -adducyny charakteryzuje się substytucją guaniny przez tyminę w pozycji 217 egzonu 10, co skutkuje zmianą glicyny na tryptofan w pozycji 460 łańcucha białkowego [128].

Polimorfizm *G460W* jest związany z sodowrażliwością. Osoby z nadciśnieniem tętniczym, które są nosicielami allele *Trp* (*W*) w porównaniu do homozygot *GlyGly* (*GG*), wykazują wyższą reabsorbcję sodu w nerkach [129], większe zmiany ciśnienia tętniczego w odpowiedzi na podaż sodu lub leczenie diuretykami. Postuluje się także synergistyczny wpływ polimorfizmu inercyjno/delecyjnego genu enzymu konwertującego angiotensynę oraz polimorfizmu *G460W ADD1* na zwiększenie ryzyka występowania nadciśnienia tętniczego. Obecność allele *Trp* genu alfa-adducyny zwiększała ryzyko nadciśnienia związane z nosicielstwem dwóch allele *D* genu *ACE* [105].

Istnieją doniesienia, że opisywany polimorfizm może mieć związek z zaawansowaniem zmian w naczyniach wieńcowych oraz występowaniem zawału serca oraz udaru mózgu (zarówno niedokrwienego jak i krwotocznego). Większe zaawansowanie miażdżycy u chorych, którzy są nosicielami allele *Trp* może mieć związek z częstszym występowaniem dyslipidemii u tych osób [130]. Stwierdzono także, że chorujący na cukrzycę typu 2, nosiciele allele *Trp* są bardziej narażeni na zgon z powodów sercowo-naczyniowych. Podobny związek zaobserwowano w populacji hipertoniców [131]. Opisywano również wpływ polimorfizmu alfa-adducyny na zwiększony wskaźnik masy lewej komory oraz występowanie przerostu lewej komory, który jest uznanym czynnikiem ryzyka sercowo-naczyniowego [132].

Wyniki niektórych badań wykazują jednak, że allele *Trp* wywiera ochronny wpływ przed zawałem serca. Ten paradoksalny wpływ tego allele można wytłumaczyć poprzez jego

wpływ na hipotetyczny mechanizm inny niż ten, który prowadzi m. in. do nadciśnienia. Być może także istnieje nierównowaga sprzężeń z genem, który wywiera działanie protekcyjne [133].

Jak wspomniano wcześniej, polimorfizm *G460W* jest związany z reakcją na leczenie diuretyczne hydrochlorotiazylem: nosiciele allele *Trp* reagują większym spadkiem ciśnienia po zastosowaniu hydrochlorotiazylu niż homozygoty *GlyGly*. Efekt ten jest wyraźniejszy u chorych posiadających co najmniej jeden allel *I* genu *ACE* [134].

2.4.8. Polimorfizm *C825T* genu podjednostki beta-3 białka G (*C825T GNB-3*)

Białka G to grupa polimorficznych białek posiadających właściwości GTP-azy. Występują we wszystkich komórkach ludzkiego ciała. Główną rolą tych białek jest przekazywanie sygnałów komórkowych, które w głównej mierze pochodzą z heptahelikalnych receptorów, ale także z receptorów o aktywności kinazy tyrozynowej.

Każde białko G, które jest związane z wewnętrzną powierzchnią błony komórkowej składa się z trzech podjednostek (α , β i γ). Podjednostki β i γ są ze sobą silnie połączone.

W momencie przyłączenia się liganda do receptora związanego z białkiem G, następuje zmiana konformacji przestrzennej receptora, co umożliwia połączenie podjednostki α białka G z receptorem. Prowadzi to w efekcie do aktywacji rozmaitych kaskad przekazywania sygnałów i białek efektorowych.

W związku z kluczową rolą białka G w przekazywaniu prawie wszystkich sygnałów w komórce, można spodziewać się, że wszelkie zmiany zarówno w ekspresji genów kodujących te białka, a także mutacje w tych genach, mogą być związane z różnymi zaburzeniami w funkcjonowaniu komórki, a co za tym idzie z udziałem w patogenezie niektórych chorób.

Gen *GNB3* znajduje się na chromosomie 12p13 i składa się z 11 egzonów. Polimorfizm *C825T* polega na zamianie cytozyny na tyminę w pozycji 825 w egzonie 10. Nie ma on wpływu na sekwencję aminokwasów w tym egzonie, ale jest związany z występowaniem alternatywnego splicingu (składania RNA) polegającego na braku nukleotydów 498-620 w egzonie 9. Wariant mRNA podlega translacji na skrócony łańcuch aminokwasów i daje w rezultacie zmodyfikowaną podjednostkę $\beta 3$ określaną jako $G\beta 3s$ [135]. W populacji ludzkiej wykazano istnienie heterozygot *TC* oraz homozygot *TT* i *CC*. Wykazano, iż allel *T* związany jest ze zwiększoną aktywacją białka G [136].

Białko G pośredniczy w wielu mechanizmach molekularnych związanych z patogenezą choroby niedokrwiennej serca [137]. Wymienić należy m.in. procesy proliferacji i

migracji komórek mięśniówki gładkiej, które uczestniczą w powstawaniu zmian aterosclerotycznych. Niektóre reakcje na bodźce chemiczne takie jak: endoteliny, agoniści receptora α_2 , angiotensyna II oraz czynnik aktywujący płytki, wymagają przynajmniej częściowo udziału białka G. Szczególną uwagę należy poświęcić aktywacji płytek krwi, która wywoływana jest przez trombinę, ADP i adrenalinę. Sygnały wywoływane przez te substancje przekazywane są przez białko G, zatem adhezja płytek i tworzenie przyściennej skrzepliny w naczyniach wieńcowych, które odgrywają znaczącą rolę w tworzeniu się zmian miażdżycowych, mogą mieć związek z polimorfizmem podjednostki β -3 białka G. Procesy zapalne odgrywające podstawową rolę w miażdżycy również pośrednio wynikają z aktywacji białka G.

Opierając się na powyższych przesłankach badacze sprawdzili i potwierdzili związek polimorfizm *C825T* genu podjednostki beta-3 białka G zarówno z obecnością jak i zaawansowaniem choroby wieńcowej. Allel *T* występował częściej u chorych z CAD, a jego nosicielstwo związane było z bardziej zaawansowanymi zmianami miażdżycowymi w naczyniach wieńcowych [135]. Opisywano również fakt, że skurcz naczyń wieńcowych w reakcji na stymulację farmakologiczną jest bardziej wyrażony u nosicieli allela *T* niż u homozygot *CC* [138]. Wykazano także, że ten sam allel związany jest z częstszym występowaniem zawału serca - związek ten był silniejszy u nosicieli allela *D* genu enzymu konwertującego angiotensynę [139].

Stwierdzono też związek allela *T* z występowaniem nadciśnienia tętniczego głównie w populacjach europejskich [136]. Stwierdzono także interakcję pomiędzy polimorfizmem *C825T* oraz *I/D* genu *ACE* w rozwoju nadciśnienia – u nosicieli allela *T* i *D* nadciśnienie występowało istotnie częściej niż w innych grupach [140].

Opisywany polimorfizm wykazuje również niewielki lecz istotny statystycznie związek z występowaniem nadwagi. Najprawdopodobniej związane jest to ze zwiększoną stymulacją adipogenezy przez białko G oraz z mniej nasiloną lipolizą w tkance tłuszczowej w odpowiedzi na katecholaminy [141].

Dotychczasowe badania wykazują także możliwy związek polimorfizmu *C825T* z przerostem lewej komory u hipertoniców, a także normotoniców [142] oraz z występowaniem udaru mózgu w białej populacji – związek ten nie został potwierdzony u afroamerykanów [143].

Polimorfizm *C825T* jest związany również z reakcją na leczenie diuretyczne hydrochlorotiazidem: nosiciele allela *T* reagują większym spadkiem ciśnienia po zastosowaniu leków moczopędnych niż homozygoty *CC* [144].

W badaniach związku polimorfizmu *C825T* genu podjednostki beta-3 białka G z funkcjonowaniem układu autonomicznego, stwierdzono wyższą aktywność układu współczulnego i niższą aktywność układu przywspółczulnego u homozygot *TT* i heterozygot *T* [145].

2.4.9. Polimorfizm *T2238C* genu przedsionkowego czynnika natriuretycznego (*ScaI ANP*)

ANP czyli przedsionkowy czynnik natriuretyczny to białko składające się z 28 aminokwasów. Powstaje ono ze 126-aminokwasowego prekursora pro-ANP. W warunkach fizjologicznych ANP uwalniane jest z mięśnia przedsionków i komórek serca pod wpływem zwiększenia napięcia ścian przedsionka. Jak wykazano, przedsionkowy peptyd natriuretyczny powoduje rozliczne efekty w organizmie zaczynając od zwiększenia diurezy i usuwania sodu, poprzez wazodylatację aż do działania antymitogennego. Ogólnie rzecz ujmując ANP kontroluje bilans wody i sodu w organizmie, ma działanie odwrotne do układu RAAS oraz innych substancji wazoaktywnych w tym wazopresyny i katecholamin zatem wywiera efekt przeciwnadciśnieniowy [146]. Najważniejszym końcowym efektem zwiększonego uwalniania ANP jest zmniejszenie objętości wewnątrznaczyniowej, a co za tym idzie zmniejszenie obciążenia wstępnego serca.

W dotychczas przeprowadzonych badaniach stwierdzono, że poziom ANP podnosi się nawet stukrotnie w przeroście mięśnia lewej komory oraz w zastoinowej niewydolności serca [147]. Poziom ANP wzrasta również w czasie ostrego zawału serca i koreluje z funkcją lewej komory mięśnia sercowego. Jest również czynnikiem rokowniczym jeśli chodzi o rozwój niewydolności serca i zgon w ciągu kilkunastu miesięcy po zawale serca [148]. W badaniach na zwierzętach udowodniono, że podwyższony poziom ANP wywiera działanie chroniące przed przerostem mięśnia sercowego [149]. W badaniach laboratoryjnych wykazano udział przedsionkowego peptydu natriuretycznego w remodelingu mięśniówki naczyń poprzez bezpośredni hamujący wpływ na wzrost komórek [150] oraz w powstawaniu blaszki miażdżycowej [151]. Te własności ANP mają duże znaczenie w świetle ich ewentualnej roli w restenozie oraz występowaniu incydentów sercowo-naczyniowych po zabiegach przezskórnej angioplastyki wieńcowej, gdyż po uszkodzeniu naczynia po angioplastyce, kurczliwe komórki mięśniówki gładkiej zmieniają swoje właściwości na obserwowane w hodowlach komórkowych – takie komórki migrują i proliferują w błonie wewnętrznej, co prowadzi do przerostu intymy i do restenozy [152].

Opisano kilka polimorfizmów w genie *ANP*. Jednym z nich jest polimorfizm *Scal A2/A1*. Polega on na występowaniu tyminy lub cytozyny w pozycji 2238 genu *ANP* w regionie stop kodonu. Zamiana tyminy na cytozynę (allel *A1*) skutkuje w trakcie translacji wydłużeniem łańcucha ANP o dwie argininy w rezultacie utraty właściwości stop kodonu [153].

Istnieją doniesienia o związku mutacji *T2238C* z występowaniem choroby wieńcowej, nadciśnienia tętniczego, niedokrwienego udaru mózgu oraz niewydolności nerek u chorych z nadciśnieniem tętniczym [154-157].

III. CEL BADAŃ I GŁÓWNE HIPOTEZY BADAWCZE

3.1. Cel badania

Celem przeprowadzonych badań wśród chorych poddanych planowej angioplastyce tętnic wieńcowych 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. *M235T* genu angiotensynogenu (*M235T AGT*),
4. *C344T* genu syntazy aldosteronu (*C344T CYP11B2*),
5. *Leu33/Pro* genu glikoproteiny płytkowej IIIa (*PLA1/PLA2 GPIIIa*),
6. *G460W* genu alfa adducyny (*G460W ADD1*),
7. *C825T* genu podjednostki beta-3 białka G (*C825T GNB-3*),
8. *T2238C* genu przedsiolkowego czynnika natriuretycznego (*ScaI ANP*),

z ryzykiem dużych incydentów wieńcowych (MACE) takich jak: zgon, zawał, kolejna rewaskularyzacja leczonego naczynia oraz niestabilna choroba wieńcowa w czasie 36 miesięcy po zabiegu PCI.

3.2. Hipoteza badawcza

Występowanie w genotypie danego osobnika pojedynczego, wybranego allela badanych polimorfizmów genów zwiększa ryzyko wystąpienia dużych incydentów wieńcowych (MACE) takich jak: zgon, zawał, kolejna rewaskularyzacja leczonego naczynia oraz niestabilna choroba wieńcowa w czasie 36 miesięcy po planowym zabiegu PCI.

IV. MATERIAŁ I METODY

4.1. Badana grupa

Badania przeprowadzono w grupie 142 pacjentów z rozpoznaną chorobą wieńcową, u których angiograficznie stwierdzono wskazania do wykonania rewaskularyzacji tylko jednego naczynia wieńcowego. Chorzy ci, w wieku od 43 do 86 lat (średni wiek 66 ± 9 lat), byli hospitalizowani w I Katedrze i Klinice Kardiologii AM w Gdańsku w roku 2003, w celu wykonania pierwszej, planowej angioplastyki tętnic wieńcowych w Pracowni Kardioangiologii Inwazyjnej AM w Gdańsku. Wszyscy pacjenci, włączeni do badania, wyrazili pisemną zgodę na udział w badaniu po zapoznaniu się z jego projektem, zaaprobowanym przez Terenową Komisję Etyki Badań Naukowych przy AM w Gdańsku.

4.2. Dane kliniczne

Dane kliniczne dotyczące dotychczasowego przebiegu chorób układu sercowo-naczyniowego oraz czynników ryzyka choroby wieńcowej zbierano w trakcie badania podmiotowego.

Zawał mięśnia sercowego rozpoznawano na podstawie standardowych kryteriów: typowych objawów klinicznych i wzrostu markerów martwicy mięśnia sercowego dla zawału bez uniesienia odcinka ST (NSTEMI) oraz dodatkowo typowych zmian w zapisie elektrokardiograficznym dla zawału z uniesieniem odcinka ST (STEMI).

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

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

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

Jako palacza tytoniu określano osobę, która paliła w momencie włączenia do badania lub zaprzestała palenia mniej niż rok wcześniej.

Profil lipidowy (cholesterol całkowity, cholesterol HDL, trójglicerydy) i poziom glikemii na czczo oznaczano standardowymi metodami analityki medycznej w Akademickim

Centrum Medycyny Laboratoryjnej. Poziom cholesterolu LDL wyliczono z równania Friedewalda. Charakterystyka kliniczna badanej grupy została przedstawiona w Tab.1.

Wiek (lata)	66±9
Kobiety	36.6% (n=52)
Wskaźnik masy ciała BMI (kg/m ²)	26.4±3.4
Cholesterol całkowity TC (mg%)	184±34
Cholesterol LDL (mg%)	105±27
Cholesterol HDL (mg%)	50±16
Trójglicerydy TG (mg%)	149±77
Glukoza na czczo (mg%)	105±27
Nadciśnienie tętnicze (%)	72 (n=102)
Cukrzyca (%)	28 (n=40)
Palenie tytoniu (%)	4.2 (n=6)
Przebyty zawał mięśnia sercowego (%)	41.5 (n=59)

Tab. 1. Charakterystyka badanej grupy 142 pacjentów poddanych zabiegowi PCI z powodu CAD. Wyniki przedstawiono jako udział procentowy lub średnią z pojedynczym odchyleniem standardowym.

Dane dotyczące incydentów sercowo-naczyniowych, które wystąpiły w okresie obserwacji uzyskiwano w trakcie wizyty kontrolnej lub wywiadu telefonicznego przeprowadzonego co najmniej 36 miesięcy po pierwotnej angioplastyce tętnic wieńcowych. Obserwację zakończono w 2008 roku. W analizie uwzględniano wszystkie zgony z powodów sercowo-naczyniowych, które wystąpiły w grupie chorych zakwalifikowanych do badania.

Zawał mięśnia sercowego rozpoznawano na podstawie wyżej wymienionych kryteriów. Jako kolejną rewaskularyzację uznawano każdy nieplanowany uprzednio zabieg rewaskularyzacyjny. Zbierano także dane dotyczące hospitalizacji z powodu niestabilnej choroby wieńcowej, zawału serca, udaru mózgu i innych schorzeń sercowo-naczyniowych.

Standardowo (zgodnie z wówczas obowiązującymi zaleceniami oraz możliwościami finansowymi) pacjenci przyjmowali kwas acetylosalicylowy w dawce 75-150 mg/d (przewlekłe) oraz tiklopidynę 2x 250 mg/d (3 dni przez zabiegiem i 4 tygodnie po zabiegu) lub klopidoogrel (300 mg w dniu zabiegu, a następnie 75 mg/d przez 4 tygodnie).

Bezpośrednio przed zabiegiem chorzy otrzymywali także 5-10 tys. jednostek heparyny. Nie używano inhibitorów receptora glikoproteiny płytkowej IIb/IIIa.

Pozostałe leki używane w farmakoterapii choroby wieńcowej, hiperlipidemii, nadciśnienia i cukrzycy były stosowane według obowiązujących standardów.

4.3. Procedura przezskórnej angioplastyki tętnic wieńcowych

Przezskórną angioplastykę tętnic wieńcowych wykonywano według opisanej wcześniej przez Gruentziga metody [158] przy pomocy aparatów Integris 300HM (PHILIPS) lub Axiom Artis VC 20 (SIEMENS) w Pracowni Kardioangiologii Inwazyjnej AMG (kierownik: dr n. med. Dariusz Ciećwierz).

Dostęp naczyniowy uzyskiwano poprzez nakłucie tętnicy udowej lub promieniowej techniką Seldingera. W trakcie zabiegu wykorzystywano cewniki prowadzące 6F lub 7F oraz cewniki balonowe dostępne na rynku. Implantacja stentu uzależniona była od decyzji wykonującego procedurę operatora.

Bezpośredni efekt zabiegu oceniali dwóch niezależnych operatorów. Jako zabieg skuteczny oceniano taki, po którym stenoza rezydualna była mniejsza niż 30%, a przepływ kontrastu w zaopatrywanym naczyniu wynosił 3 wg skali TIMI. Do badania zakwalifikowano chorych, u których zabieg został oceniony jako skuteczny.

4.4. Izolacja materiału genetycznego i oznaczanie polimorfizmów wybranych genów

Badania molekularne były wykonywane w Katedrze i Zakładzie Biologii i Genetyki Akademii Medycznej w Gdańsku (kierownik: prof. dr hab. n. med. Janusz Limon).

Materiał stanowiła krew obwodowa pobrana do probówki zawierającej etylenodwuaminoczeroctan (EDTA) a następnie przechowywana w temperaturze -20° C.

Izolację DNA z krwi obwodowej wykonywano metodą fenol-chloroform, według następującego protokołu:

1. Do rozmrożonej krwi dodawano 10 ml roztworu 1x RBC i inkubowano przez 10 minut w temp. -20°C w celu lizy czerwonych krwinek krwi.
2. Probówki wirowano z prędkością 5000 obr./min w temperaturze 4°C przez 10 minut.
3. Po odwirowaniu zlewano supernatant i powyższą procedurę powtarzano kilkakrotnie do momentu uzyskania przejrzystości supernatantu.

4. Do osadu dodawano 3 ml roztworu NaCl-EDTA, 500µl SDS oraz 12 µl 20 ng/ml proteiny K.
5. Mieszaninę inkubowano przez 24 godziny w temperaturze 37 °C w celu degradacji białek.
6. Do próbki dodawano 3 ml fenolu i wytrząsano przez 30 minut. Następnie wirowano z prędkością 4000 obr./min w temperaturze 4°C przez 15 minut.
7. Po usunięciu fazy wodnej dodawano 5 ml chloroformu i ponownie wytrząsano przez 30 minut. Następnie wirowano z prędkością 7000 obr./min w temperaturze 4°C przez 10 minut. Ściągano fazę wodną, procedurę tę powtarzano dwukrotnie. Powyższy etap miał na celu odbiałczenie mieszaniny.
8. Kolejnym etapem była precypitacja poprzez dodanie 5 ml izopropanolu. Następnie próbki inkubowano przez 30 minut w temp. -20 °C.
9. Precypitowany DNA trzykrotnie płukano 70% etanolem. Następnie próbkę odwirowywano, zlewano supernatant i pozostawiano do wysuszenia.
10. DNA zawieszano w 300 µl wody destylowanej i przechowywano w próbkach typu Eppendorfa w temperaturze 4°C.

4.4.1. Oznaczanie polimorfizmu *insercyjno/delecyjnego* genu enzymu konwertującego angiotensynę I (*I/D ACE*)

Badanie polimorfizmu *I/D* genu *ACE* wykonywano za pomocą łańcuchowej reakcji polimerazy DNA według Rigat i wsp. [159].

Uzyskiwano dwa produkty PCR: allel *I* – insercyjny i allel *D* - delecyjny (różniące się długością o 287 par zasad). Produkty te identyfikowano w świetle UV podczas elektroforezy w 2% żelu agarozowym barwionym bromkiem etydyny (ryc.1).

Sekwencja amplifikowanego regionu przedstawiała się następująco:

```
actgctgagg cctgcaggt gtctgcagca tgtgccccag gccggggact ctgtaagcca
ctgctggaga ccaactcccat cctttctccc atttctctag acctgctgcc tatacagtca
cttttttttt ttttttgaga cggagtctcg ctctgtcgcc caggctggag tgcagtggcg
ggatctcggc tcaactgcaag ctccgcctcc cgggttcacg ccattctcct gcctcagcct
ccaagtagc tgggaccaca ggcgcccgcc actacgcccg gctaattttt tgtattttta
gtagagacgg ggtttcaccg ttttagccgg gatggtctcg atctcctgac ctctgatcc
gcccgcctcg gcttcccaa gtgctgggat tacaggcgtg atacagtcac ttttatgtgg
tttcgccaat tttattccag ctctgaaatt ctctgagctc cccttacaag cagaggtgag
ctaagggctg gagctcaagg cattcaaacc cctaccagat ctgacgaatg tgatggccac
atccccgaaa tatgaagacc tgttatgggc atgggagggc tggcgagaca aggcggggag
```

Sekwencja starterów została zaznaczona na schemacie kolorem żółtym i przedstawiała się następująco:

5'-ctg gag acc act ccc atc ctt tct-3'

5'-gat gtg gcc atc aca ttc gtc aga-3'

Fragment insercyjny zaznaczono na schemacie podkreśleniem.

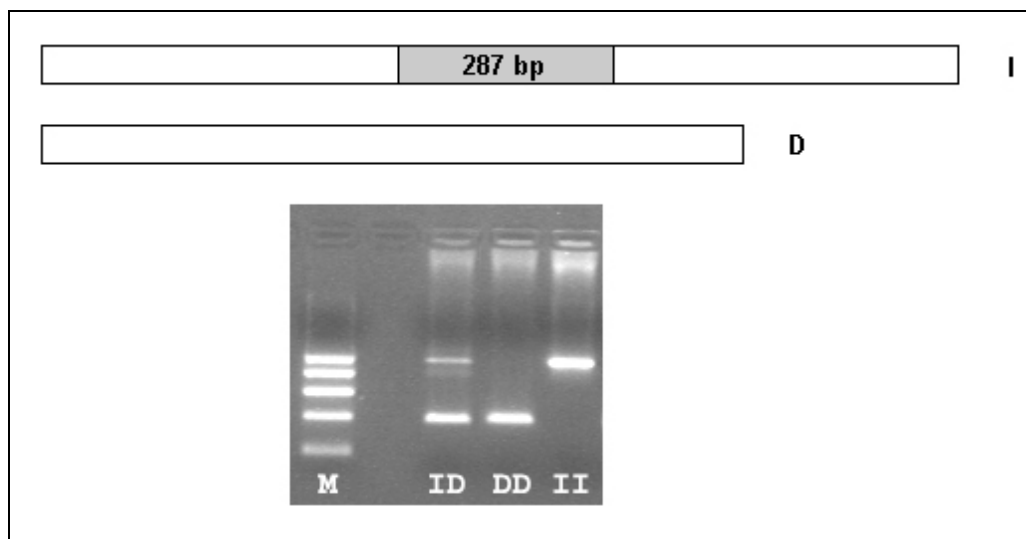
Tab. 2. Skład mieszaniny reakcyjnej:

odczynnik	objętość na próbkę
10x Taq bufor	2.5 µl
MgCl ₂	1.5 µl
dNTPs	0.2 µl
starter sensowny	0.25 µl
starter antysensowny	0.25 µl
polimeraza Taq	0.2 µl
dd H ₂ O	15.1 µl
DNA	3 µl

Tab. 3. Program PCR:

Etap PCR	Temperatura	Czas	Ilość cykli
Wstępna denaturacja	95°C	5 min.	-
Denaturacja	95°C	30 sek.	30 cykli
Przyłączenie starterów	58.5 °C	1 min.	
Wydłużanie	72 °C	2 min.	
Końcowe wydłużanie	72 °C	10 min.	-
	4 °C	∞	-

W trakcie reakcji PCR uzyskiwano produkt o wielkości 190 pz w przypadku allelu *D* oraz 480 w przypadku allelu *I*.



Ryc. 1. Rozdział elektroforetyczny produktów PCR - polimorfizm *I/D* genu *ACE*

Ponieważ allel delecyjny, jako krótszy, jest preferencyjnie amplifikowany, istnieje możliwość błędnego zakwalifikowania heterozygoty *ID* jako homozygoty *DD*. Aby uniknąć tego typu błędów, wszystkie wstępnie zidentyfikowane jako homozygoty *DD* próbki weryfikowano kolejną reakcją PCR ze starterami specyficznymi dla allelu insercyjnego wg metody opisanej przez Lindpaintnera i wsp. [160].

Sekwencja amplifikowanego regionu przedstawiała się następująco:

```

actgctgagg ccctgcaggt gtctgcagca tgtgccccag gccggggact ctgtaagcca
ctgctggaga cactcccat cttttctccc atttctctag acctgctgcc tatacagtca
cttttttttt ttttttgaga cggagtctcg ctctgtcgcc caggctggag tgcagtggcg
ggatctcggc tcaactgcaag ctccgctcc egggttcacg ccattctcct gcctcagcct
cccaagtagc tgggaccaca ggcgccccgc actacgcccg gctaattttt tgtattttta
gtagagacgg ggtttcaccg ttttagccgg gatggctctg atctcctgac ctcgatgcc
gcccgcctcg gctcccaaa gtgctgggat tacaggcgtg atacagtcac ttttatgtgg
tttcgccaat tttattccag ctctgaaatt ctctgagctc cccttacaag cagaggtgag
ctaagggctg gagctcaagg cattcaaacc cctaccagat ctgacgaatg tgatggccac
atcccggaaa tatgaagacc tgttatgggc atgggagggc tggcgagaca aggcggggag

```


Sekwencja starterów została zaznaczona na schemacie kolorem żółtym i przedstawiała się następująco:

5'-tgg gac cac agc gcc cgc cac tac-3'

5'-tcg cca gcc ctc cca tgc cca taa-3'

Fragment insercyjny zaznaczono na schemacie podkreśleniem.

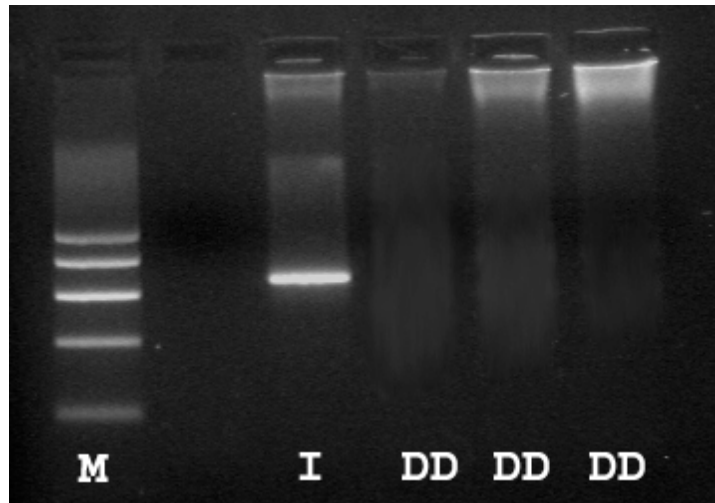
Tab. 4. Skład mieszaniny reakcyjnej:

odczynnik	objętość na próbkę
10x Taq bufor	1.25 µl
MgCl ₂	0.75 µl
dNTPs	0.2 µl
starter sensowny	0.5 µl
starter antysensowny	0.5 µl
polimeraza Taq	0.2 µl
dd H ₂ O	9.6 µl
DNA	2 µl

Tab. 5. Program PCR:

Etap PCR	Temperatura	Czas	Ilość cykli
Wstępna denaturacja	95°C	5 min.	-
Denaturacja	95°C	30 sek.	30 cykli
Przyłączenie starterów	70 °C	45 sek.	
Wydłużanie	72 °C	2 min.	
Końcowe wydłużanie	72 °C	10 min.	-
	4 °C	∞	-

W przypadku obecności allelu *I* (heterozygota *ID*) otrzymywano produkt o długości 335 par zasad, który identyfikowano w świetle UV podczas elektroforezy w 2% żelu agarozowym barwionym bromkiem etydyny. Natomiast jeśli badano homozygotę *DD*, nie uzyskiwano produktu. (ryc. 2)



Ryc. 2. Rozdział elektroforetyczny po weryfikacji reakcją PCR ze starterami specyficznymi dla allelu insercyjnego genu *ACE*.

4.4.2. Oznaczanie polimorfizmu *A1166C* genu receptora dla angiotensyny II typu pierwszego (*A1166C AT1R*)

Badanie polimorfizmu *A1166C* genu receptora *AT1* zostało przeprowadzone przy pomocy techniki długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP - *restriction fragment length polymorphism*) według metody opisanej przez Katsuya i wsp. [161].

Sekwencja amplifikowanego regionu przedstawiała się następująco:

```

tccccaccaa atattcactt ttctggatgt attgattcaa ctaggcatca tacgtgactg
tagaattgca gatattgtgg acacggccat gcctatcacc atttgtatag cttatnttaa
caattgacctg aatcctcttt tttatggctt tctggggaaa aaatttaaaa gatatnttct
ccagcttcta aatatattc ccccaaaagc caaatccac tcaaaccttt caacaaaaat
gagcagctt tcctaccgcc C/Actcagataa tgtaagctca tccaccaaga agcctgcacc
atgntttgag gttgagtgac atgttcgaaa cctgtccata aagtaatntt gtgaaagaag
gagcaagaga acattcctct gcagcacttc actaccaaat gagcattagc tactntttag
aattgaagga gaaaatgcat tatgtggact gaaccgactt ttctaaagct ctgaacaaaa
gctnttcttt cctnttgcaa caagacaaag caaagccaca tnttgatta gacagatgac
  
```

Sekwencja starterów została zaznaczona na schemacie kolorem żółtym i przedstawiała się następująco:

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

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

Miejsce mutacji zaznaczono wytłuszczonym drukiem.

Tab. 6. Skład mieszaniny reakcyjnej:

odczynnik	objętość na próbkę
10x Taq bufor	1.25 µl
MgCl ₂	0.75 µl
dNTPs	0.2 µl
starter sensowny	0.5 µl
starter antysensowny	0.5 µl
polimeraza Taq	0.08 µl
dd H ₂ O	6.72 µl
DNA	2 µl

Tab. 7. Program PCR:

Etap PCR	Temperatura	Czas	Ilość cykli
Wstępna denaturacja	95°C	5 min.	-
Denaturacja	95°C	30 sek.	30 cykli
Przyłączenie starterów	68 °C	30 sek.	
Wydłużanie	72 °C	60 sek.	
Końcowe wydłużanie	72 °C	10 min.	-
	4 °C	∞	-

Pierwotny produkt PCR miał długość 440 pz.

Po trawieniu enzymem restrykcyjnym DdeI (Promega, Madison, Stany Zjednoczone), według procedury zalecanej przez producenta, w zależności od genotypu, uzyskiwano następujące fragmenty:

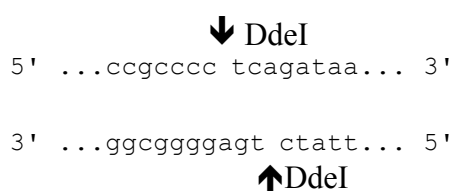
Homozygota *CC*- 240, 140, 60 pz

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

Homozygota *AA*- 240, 200 pz

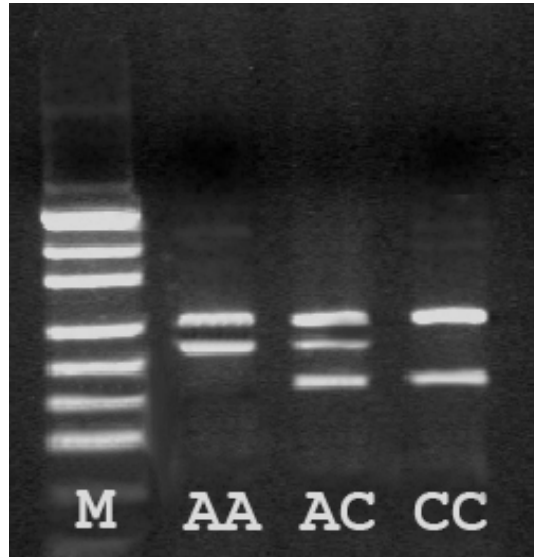
Tab. 8. Skład mieszaniny reakcyjnej – trawienie restryktazą 37 °C – 24 godz.

odczynnik	objętość na próbkę
produkt PCR	5 µl
H ₂ O	12 µl
bufor	2 µl
enzym DdeI	1 µl
BSA	0.2 µl



Schem. 1. Miejsce i sposób restrykcji produktu PCR przez enzym DdeI

Identyfikacji fragmentów uzyskanych po trawieniu restryktazą dokonywano przy pomocy rozdziału na 2% żelach agarozowych barwionych bromkiem etydyny i wizualizowano w świetle UV (ryc. 3).



Ryc.3. Rozdział elektroforetyczny produktów PCR - polimorfizm *A1166C* genu receptora *AT1*

4.4.3. Oznaczanie polimorfizmu *M235T* genu angiotensynogenu (*M235T AGT*)

Polimorfizm *M235T* genu angiotensynogenu badano przy pomocy techniki ASA-PCR z użyciem starterów zaprojektowanych przez mgr Magdalенę Ratajską (Katedra i Zakład Biologii i Genetyki AMG).

Sekwencja amplifikowanego regionu przedstawiała się następująco:

```
caggcccagc tgctgctgtc cacggtggtg ggcgtgttca cagccccagg cctgcacctg
aagcagccgt ttgtgcaggg cctggctctc tatacccctg tggctctccc acgctctctg
gacttcacag aactggatgt tgctgctgag aagattgaca ggttcatgca ggctgtgaca
ggatggaaga ctggctgctc cctgaCTggg agccagtgtg gacagcacc cggctttcaa
cacctacgtc cacttccaag gtaaggcaaa cctctctgct ggctctggcc ctaggactta
gtatccaatg tgtagctgag atcagccagt caggccttgg agatgggcag ggggcagccc
tgccgacata cctggtgacc acccttgaga agtggggaag tggctgctcc gctgggtccc
tggatgggcc gtccacctcc tggacctgct gccctactat gtgcacgact atacaacatc
ctttttctta catcatttaa tccccttatg atgtggtgaa gaggtatttg tgcccttggt
taccagtgaa gaaatagaga ctccggagaaa caaagtgcct tgc
```

Sekwencja starterów została zaznaczona na schemacie i przedstawiała się następująco:

F1 - 5' gca cct gaa gca gcc gtt tg 3'

R1 - 5' ctg tcc aca ctg gct ccc a 3'

F2 - 5' aag act ggc tgc tcc ctg ac 3'

R2 - 5' gca agg cac ttt gtt tet ccg 3'

Symbolami F1 i R1 oznaczono startery zewnętrzne, a symbolami F2 i R2 startery specyficzne do sekwencji z mutacją.

Miejsce mutacji zaznaczono wytłuszczonym drukiem.

Tab. 9. Skład mieszaniny reakcyjnej:

odczynnik	objętość na próbkę
10x Taq bufor	2.5 µl
MgCl ₂	2 µl
dNTPs	0.5 µl
starter F1	0.5 µl
starter R1	0.5 µl
starter F2	0.5 µl
starter R2	0.5 µl
polimeraza Taq	0.11 µl
dd H ₂ O	18.4 µl
DNA	2 µl

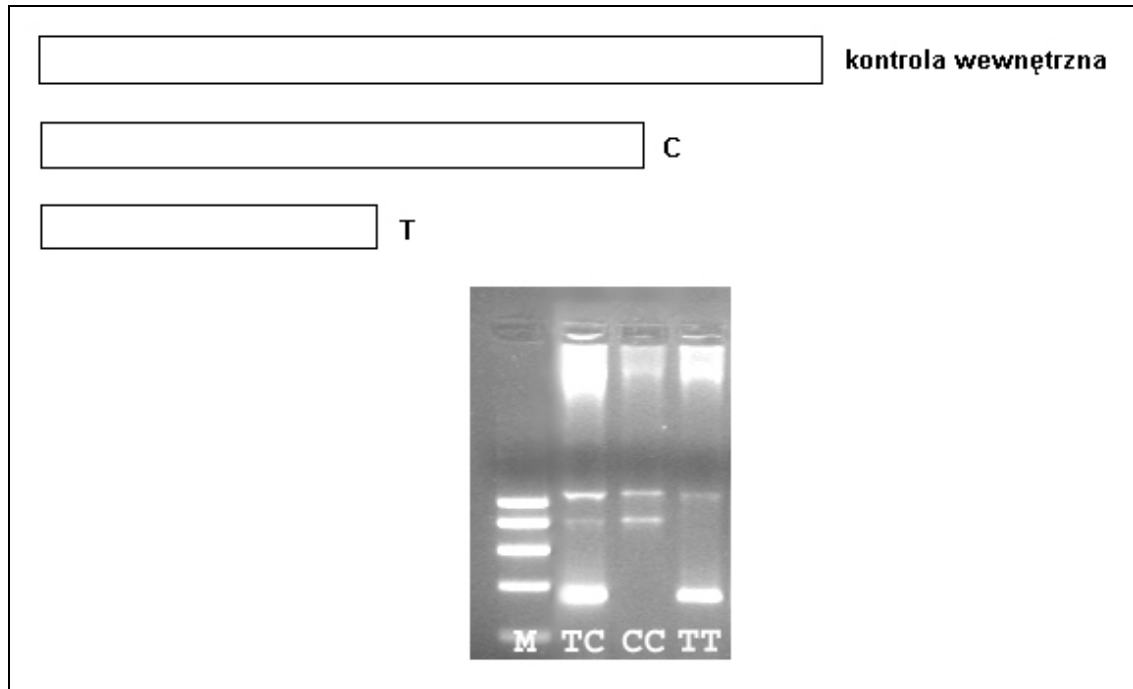
Tab. 10. Program PCR:

Etap PCR	Temperatura	Czas	Ilość cykli
Wstępna denaturacja	95°C	5 min.	-
Denaturacja	95°C	20 sek.	35 cykli
Przyłączenie starterów	62 °C	20 sek.	
Wydłużanie	72 °C	20 sek.	
Końcowe wydłużanie	72 °C	7 min.	-
	4 °C	∞	-

W zależności od genotypu otrzymywano następujące fragmenty:

- w przypadku genotypu homozygoty *TT (MM)* – 531 oraz 171 pz
- w przypadku heterozygoty *TC (MT)* – 531, 396 oraz 171 pz
- w przypadku homozygoty *CC (TT)* – 531 oraz 396 pz

Identyfikacji fragmentów uzyskanych po reakcji ASA-PCR dokonywano przy pomocy rozdziału na 2% żelach agarozowych barwionych bromkiem etydyny i wizualizowano w świetle UV (ryc. 4).



Ryc. 4. Polimorfizm *M235T* genu angiotensynogenu (*M235T AGT*)

4.4.4. Oznaczanie polimorfizmu *C344T* genu syntazy aldosteronu (*C344T CYP11B2*)

Polimorfizm *C344T* genu syntazy aldosteronu badano przy pomocy techniki długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP - *restriction fragment length polymorphism*).

Sekwencja amplifikowanego regionu przedstawiała się następująco:

```

ggagacccca tgtgactcca ggaccctggt tgataacaac gtatcgagat tcctcacatg
gaaccagtgc gctcctgtgg tggaggggtg acctgtgtca gggcaggggg tacgtggaca
ttttctgcag tttttgatca attttgcaat gaactaaatc tgtggtataa aaataaagtc
tattaaaaga atccaaggcC/T ccctctcatc tcacgataag ataaagtccc catccatttt
actcctctca gccctggaga aaggagaggc cagggtccac caccttcac cagcatggac
ccccagtcca gacccacgc cttttctcag catcctcaga ccagcaggac ttgcagcaat
  
```

Sekwencja starterów została zaznaczona na schemacie i przedstawiała się następująco:

5'-ctg tgg tgg agg gtg tac ct-3'

5'-tcc agg gct gag agg agt aa-3'

Miejsce mutacji zaznaczono wytłuszczonym drukiem.

Tab. 11. Skład mieszaniny reakcyjnej:

odczynnik	objętość na próbkę
10x Taq bufor	1.5 µl
MgCl ₂	1.5 µl
dNTPs	0.5 µl
starter sensowny	0.5 µl
starter antysensowny	0.5 µl
polimeraza Taq	0.08 µl
dd H ₂ O	10.4 µl
DNA	3 µl

Tab. 12. Program PCR:

Etap PCR	Temperatura	Czas	Ilość cykli
Wstępna denaturacja	95°C	5 min.	-
Denaturacja	95°C	30 sek.	30 cykli
Przyłączenie starterów	64 °C	1 min.	
Wydłużanie	72 °C	2 min.	
Końcowe wydłużanie	72 °C	7 min.	-
	4 °C	∞	-

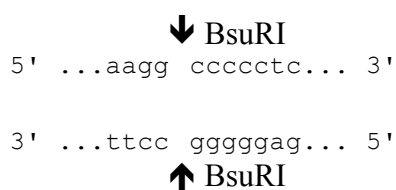
Pierwotny produkt PCR miał długość 184 pz.

Po trawieniu enzymem restrykcyjnym BsuRI (Fermentas Inc., Hanover, Maryland, USA), otrzymywano następujące fragmenty:

- w przypadku genotypu homozygoty *TT* - 184 pz
- w przypadku heterozygoty *TC* – 184, 124 oraz 60pz
- w przypadku homozygoty *CC* – 124 oraz 60 pz

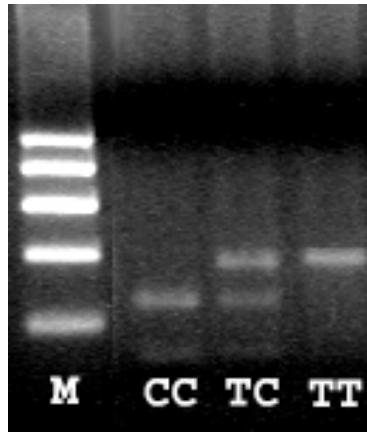
Tab. 13. Skład mieszaniny reakcyjnej – trawienie restryktazą 37 °C – 24 godz.

odczynnik	objętość na próbkę
produkt PCR	5 µl
H ₂ O	3 µl
bufor	2 µl
enzym BsuRI	0.2 µl
BSA	0.2 µl



Schem. 2. Miejsce i sposób restrykcji produktu PCR przez enzym BsuRI

Identyfikacji fragmentów uzyskanych po trawieniu restryktazą dokonywano przy pomocy rozdzału na 2% żelach agarozowych barwionych bromkiem etydyny i wizualizowano w świetle UV (ryc. 5).



Ryc.5. Polimorfizm *C344T* genu syntazy aldosteronu (*C344T CYP11B2*)

4.4.5. Oznaczanie polimorfizmu *PIA1/PIA2* genu glikoproteiny płytkowej *GPIIIa*

Badanie polimorfizmu *PIA1/PIA2* genu glikoproteiny płytkowej *GPIIIa* wykonano za pomocą techniki długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP - *restriction fragment length polymorphism*) w oparciu o metodę opisaną wcześniej przez Weiss i wsp. [162].

Sekwencja amplifikowanego regionu przedstawiała się następująco:

```
gggattatcc caggaaagac cacaacaatt tgtttatgct ccaatgtacg gggtaaactc
ttagctattg ggaagtggta gggc ctgcag gaggtagaga gtcgccatag ctctgattgc
tggacttctc tttgggctcc tgtcttacag gccctgcctc T/Cgggctcacc tcgctgtgac
ctgaaggaga atctgctgaa ggataactgt gccccagaat ccatcgagtt ccagtgagtg
gaggcccag tactagagga caggcccctc agcgacaagg gctctggaga cagctcccag
gtcact caag tcagtcacca gaggattgca ctccggctcc ggccaggtag ggctgggact
ctttgcgggg agagacctga agcaggtggg catagagcac aaggtggagg tctgaggagg
```

Stosowano startery (zaznaczone na schemacie kolorem żółtym) 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'

Miejsce mutacji zaznaczono wytłuszczonym drukiem.

Tab. 14. Skład mieszaniny reakcyjnej:

odczynnik	objętość na próbkę
10x Taq bufor	2 μ l
MgCl ₂	1.5 μ l
dNTPs	0.4 μ l
starter sensowny	0.5 μ l
starter antysensowny	0.5 μ l
polimeraza Taq	0.1 μ l
dd H ₂ O	12 μ l
DNA	3 μ l

Tab. 15. Program PCR:

Etap PCR	Temperatura	Czas	Ilość cykli
Wstępna denaturacja	95°C	4 min.	-
Denaturacja	94°C	45 sek.	30 cykli
Przyłączenie starterów	72 °C	1 min.	
Wydłużanie	72 °C	60 min.	
Końcowe wydłużanie	72 °C	10 min.	-
	4 °C	∞	-

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

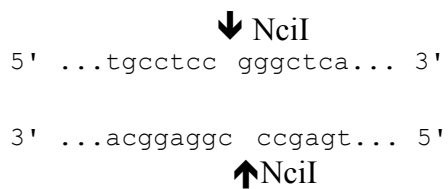
Homozygota *PLA1A1*- 19, 234 pz

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

Homozygota *PLA2A2*- 19, 77, 157 pz

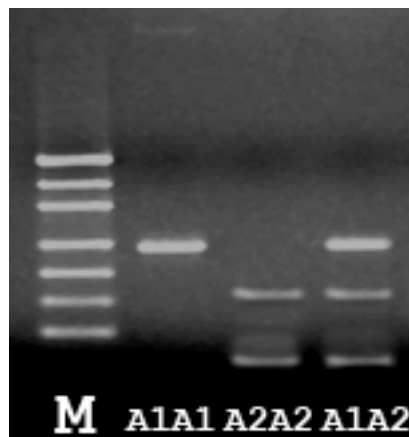
Tab. 16. Skład mieszaniny reakcyjnej – trawienie restryktazą 37°C – 24 godz.

odczynnik	objętość na próbkę
produkt PCR	5 µl
H ₂ O	3 µl
bufor	2 µl
enzym NciI	0.4 µl
BSA	0.3 µl



Schem. 3. Miejsce i sposób restrykcji produktu PCR przez enzym NciI

Identyfikacji powyższych fragmentów dokonywano przy pomocy elektroforezy na 3% żelach agarozowych barwionych bromkiem etydyliny i wizualizowano w świetle UV (ryc.4).



Ryc. 6. Polimorfizm *PLA1/PLA2* genu glikoproteiny płytkowej *GPIIIa*

4.4.6. Oznaczanie polimorfizmu *G460W* adducyny (*G460W ADD1*)

Polimorfizm *G460W* adducyny badano przy pomocy techniki ASA-PCR z użyciem starterów zaprojektowanych przez mgr Magdalенę Ratajską z Katedry i Zakładu Biologii i Genetyki AMG.

Sekwencja amplifikowanego regionu przedstawiała się następująco:

```
gagtcatagg gtatgcatgt gttcaacttt tgtggatggt tccacatgat tttccaaagt
gaaaccctgt tttgagatct ggaatattga ctgtctttca ctctccttcc acccta→gggc
tatagaactg gctacc→ctta tcgataccct gctctgagag agaagtctaa aaaatacagc
gatgtggagg ttctgctag tgtcacaggt tactcctttg ctagtgaagg tgattcgggc
acttgctccc cactcagaca cagttttcag aagcagcagc gggagaagac aagatggctg
aactctggcc gggg→cgacga agcttccgag gaaG/Tggca gaatggaagc agtcc←caagt
cgaagactaa ggtgtggacg aacattacac acgatcacgt gaaacccttg ctgcagtctc
tctcgtccgg tgtctgcgtg ccaagctgta ttaccaactg ←cttgggtctgt gcctacctta
ctgttcatag ttagatgacg tagagcaagt tgggtagctg gggcttcgga ggctttggga
```

Sekwencja starterów została zaznaczona na schemacie i przedstawiała się następująco:

F1 - 5' ggg cta cag aac tgg cta cc 3'

R1 - 5' gga ctg ctt cca ttc tgc ca 3'

F2 - 5' cga cga agc ttc cga gga at 3'

R2 - 5' aag gta ggc aca gac caa gc 3'

Symbolami F1 i R1 oznaczono startery zewnętrzne, a symbolami F2 i R2 startery specyficzne do sekwencji z mutacją.

Miejsce mutacji zaznaczono wytłuszczonym drukiem.

Tab. 17. Skład mieszaniny reakcyjnej:

odczynnik	objętość na próbkę
10x Taq bufor	2.5 µl
MgCl ₂	1.5 µl
dNTPs	0.5 µl
starter F1	0.5 µl
starter R1	0.5 µl
starter F2	0.5 µl
starter R2	0.5 µl
polimeraza Taq	0.1 µl
dd H ₂ O	18.4 µl
DNA	3 µl

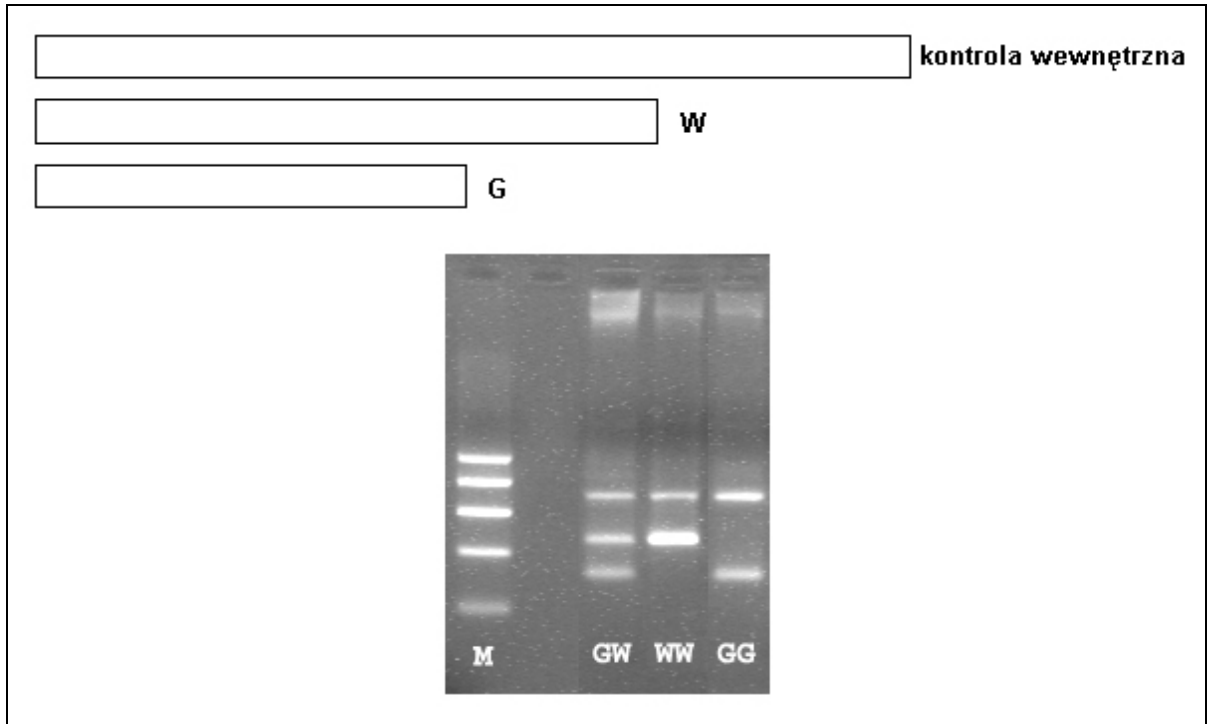
Tab. 18. Program PCR:

Etap PCR	Temperatura	Czas	Ilość cykli
Wstępna denaturacja	95°C	5 min.	-
Denaturacja	95°C	20 sek.	35 cykli
Przyłączenie starterów	62 °C	20 sek.	
Wydłużanie	72 °C	20 sek.	
Końcowe wydłużanie	72 °C	7 min.	-
	4 °C	∞	-

W zależności od genotypu otrzymywano następujące fragmenty:

- w przypadku genotypu homozygoty *GG* – 362 oraz 160 pz
- w przypadku heterozygoty *GW* – 362, 238 oraz 160 pz
- w przypadku homozygoty *WW* – 362 oraz 238 pz

Identyfikacji fragmentów uzyskanych po reakcji ASA-PCR dokonywano przy pomocy rozdziału na 2% żelach agarozowych barwionych bromkiem etydyny i wizualizowano w świetle UV (ryc. 7).





Ryc. 7. Polimorfizm *G460W* adducyny (*G460W ADD1*)

4.4.7. Oznaczanie polimorfizmu C825T genu podjednostki beta-3 białka G (C825T GNB-3)

Polimorfizm C825T GNB-3 badano przy pomocy techniki długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP - *restriction fragment length polymorphism*).

Sekwencja amplifikowanego regionu przedstawiała się następująco:

```
ttgccctgga gctgtcaggt gggaggcaga gggcgggaga ggctgtgggc tgcccaggtc
tgatccc  tga cccaacttgcc acccgtgcc tcagttcttc cccaatggag aggccatctg
cacgggctcg gatgacgctt cctgccgctt gtttgacctg cgggcagacc aggagctgat
ctgcttctcc cacgagagca tcatctgcgc catcacgtcC/T gtggccttct coctcagtgg
ccgectacta ttcgctggct acgacgactt caactgcaat gtctgggact ccatgaagtc
tgagcgtgtg ggtaagg  gcc agccctggct gctgcttcct cagctggaag gaccctcccc
agccctccct cccattctg taccctccat cagctccat ttcggactct cttactgctg
```

Sekwencja starterów została zaznaczona na schemacie kolorem żółtym i przedstawiała się następująco:

5' - tga ccc act tgc cac ccg tgc -3'

5' - gca gca gcc cag ggc tgg c -3'

Miejsce mutacji zaznaczono wytłuszczonym drukiem.

Tab. 19. Skład mieszaniny reakcyjnej:

odczynnik	objętość na próbkę
10x Taq bufor	2.4 μ l
MgCl ₂	2.25 μ l
dNTPs	1.12 μ l
starter sensowny	0.75 μ l
starter antysensowny	0.75 μ l
polimeraza Taq	0.12 μ l
dd H ₂ O	12.86 μ l
DNA	2 μ l

Tab. 20. Program PCR:

Etap PCR	Temperatura	Czas	Ilość cykli
Wstępna denaturacja	94°C	5 min.	-
Denaturacja	94°C	30 sek.	35 cykli
Przyłączenie starterów	63 °C	60 sek.	
Wydłużanie	72 °C	60 sek.	
Końcowe wydłużanie	72 °C	7 min.	-
	4 °C	∞	-

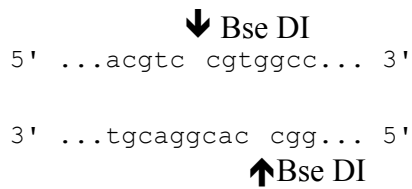
Pierwotny produkt PCR miał długość 268 pz.

Po trawieniu enzymem restrykcyjnym Bse DI (Fermentas, Burlington, Kanada), otrzymywano następujące fragmenty:

- w przypadku genotypu homozygoty *TT*- 268 pz
- w przypadku heterozygoty *CT*- 116, 152 oraz 268 pz
- w przypadku homozygoty *CC*- 116 oraz 152 pz

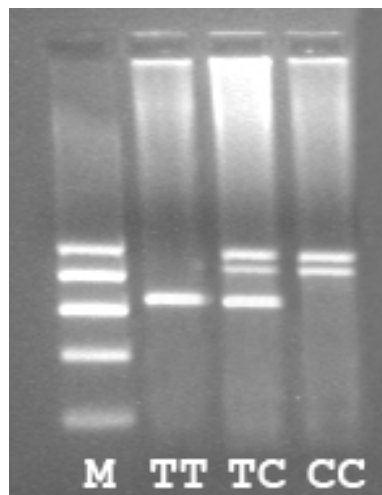
Tab. 21. Skład mieszaniny reakcyjnej – trawienie restryktazą 55 °C – 24 godz.

odczynnik	objętość na próbkę
produkt PCR	5 µl
H ₂ O	0.5 µl
bufor	2.5 µl
enzym Bse DI	0.5 µl
BSA	0.5 µl



Schem. 8. Miejsce i sposób restrykcji produktu PCR przez enzym Bse DI

Identyfikacji fragmentów uzyskanych po trawieniu restryktazą dokonywano przy pomocy rozdziału na 2% żelach agarozowych barwionych bromkiem etydyny i wizualizowano w świetle UV (ryc. 8).



Ryc.8. Polimorfizm *C825T* genu podjednostki beta-3 białka G (*C825T GNB-3*)

4.4.8. Oznaczanie polimorfizmu *ScaI* genu przedsionkowego peptydu natriuretycznego (*Sca I ANP*)

Polimorfizm *ScaI A2/A1 ANP* badano przy pomocy techniki długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP- *restriction fragment length polymorphism*) metodą opisaną przez Ramasawmy i wsp. [163]. Sekwencja amplifikowanego regionu przedstawiała się następująco:

```
ggcttaagtg aaatttactc tgatgagtaa cttgcttatac aattcatgaa gctcagaggg
tcatacaggct ggggtggggg ccggtgggaa gcaggtggtc agtaatcaag ttcagaggat
gggcacactc atacatgaag ctgacttttc caggacagcc aggtcaccaa gccagatatg
tctgtgttct ctttgcagta cT/Cgaagataa cagccagga ggacaagcag ggctgggctt
aggacagac tgcaagaggc tctgtcccc tggggtctct gctgcatttg tgcacattg
ttgccatgga gttgtgatca tcccatctaa gctgcagctt cctgtcaaca cttctcacat
cttatgctaa ctgtagataa agtggtttga tggtgacttc ctgcctctc ccaccccatg
```

Sekwencja starterów została zaznaczona na schemacie kolorem żółtym i przedstawiała się następująco:

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'

Miejsce mutacji zaznaczono wytłuszczonym drukiem.

Tab. 22. Skład mieszaniny reakcyjnej:

odczynnik	objętość na próbkę
10x Taq bufor	1.5 µl
MgCl ₂	1.5 µl
dNTPs	0.4 µl
starter sensowny	0.3 µl
starter antysensowny	0.3 µl
polimeraza Taq	0.12 µl
dd H ₂ O	8.88 µl
DNA	2 µl

Tab. 23. Program PCR:

Etap PCR	Temperatura	Czas	Ilość cykli
Wstępna denaturacja	94°C	5 min.	-
Denaturacja	94°C	30 sek.	30 cykli
Przyłączenie starterów	64 °C	30 sek.	
Wydłużanie	72 °C	2 min.	
Końcowe wydłużanie	72 °C	7 min.	-
	4 °C	∞	-

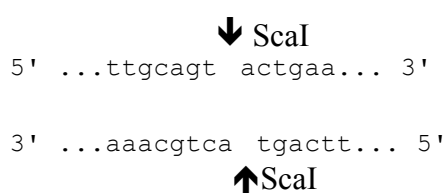
Pierwotny produkt PCR miał długość 234 pz.

Po trawieniu enzymem restrykcyjnym Sca I (EurX, Gdańsk, Polska), otrzymywano następujące fragmenty:

- w przypadku genotypu homozygoty *A1A1*- 21 oraz 213 pz
- w przypadku heterozygoty *A1A2*- 21, 96, 117 oraz 213 pz
- w przypadku homozygoty *A2A2*- 21, 96 oraz 117 pz

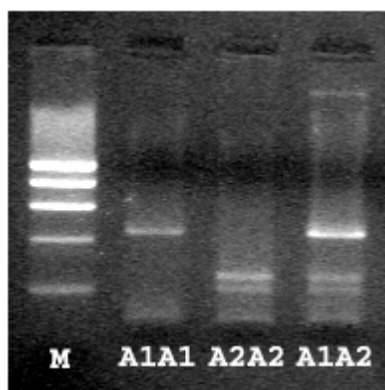
Tab. 24. Skład mieszaniny reakcyjnej – trawienie restryktazą 37 °C – 24 godz.

odczynnik	objętość na próbkę
produkt PCR	5 µl
H ₂ O	12 µl
bufor	2 µl
enzym Sca I	1 µl
BSA	0.2 µl



Schem. 5. Miejsce i sposób restrykcji produktu PCR przez enzym ScaI

Identyfikacji fragmentów uzyskanych po trawieniu restryktazą dokonywano przy pomocy rozdziału na 2% żelach agarozowych barwionych bromkiem etydyny i wizualizowano w świetle UV (ryc. 9).



Ryc. 9. Polimorfizm *ScaI* genu przedstonkowego peptydu natriuretycznego (*ScaI ANP*)

4.5. Metody analizy statystycznej

Wyniki dotyczące zmiennych ciągłych podawano jako średnie arytmetyczne i odchylenia standardowe (\pm SD) lub jako proporcje. Oceniano rozkład zmiennych ciągłych pod kątem jego zgodności z rozkładem normalnym stosując test Kołmogorowa-Smirnowa. Znamienność statystyczną różnic między średnimi zmiennych o rozkładzie normalnym oceniano za pomocą testu *t*- Studenta, a między średnimi zmiennych o rozkładzie różniącym się od normalnego testem *U*- Manna-Whitneya. Zmienne kategoryczne oceniano za pomocą testu χ^2 .

Do analizy zgodności uzyskanych rozkładów genotypów z równowagą Hardy-Weinberg'a oraz dla porównania rozkładów genotypów między poszczególnymi podgrupami zastosowano test χ^2 . Związek poszczególnych genotypów z wystąpieniem incydentu sercowo-naczyniowego po zabiegu angioplastyki wieńcowej oceniano przy pomocy analizy logistycznej. Jako miarę ryzyka związanego z danym genotypem obliczano ilorazy szans (OR- *odds ratio*) z 95% przedziałami ufności (95% CI- *confidence intervals*).

Obliczenia statystyczne zostały wykonane za pomocą programu STATISTICA for Windows, wersja 7.1 (StatSoft, Stany Zjednoczone). Wartość $p < 0.05$ przyjęto za statystycznie znamienne.

V. WYNIKI

W celu łatwiejszego przeglądania wyników przeprowadzonych analiz, punkty końcowe podzielono na proste (zgon z powodów sercowych, zawał serca, rewaskularyzacja leczonego naczynia – TVR, nieplanowana angioplastyka jakiegokolwiek naczynia (pilna lub elektywna), CABG, niestabilna choroba wieńcowa) i złożone.

Podział złożonych punktów końcowych przedstawiono w tabeli nr 25 poniżej.

Typ złożonego punktu końcowego	Składowe złożonego punktu końcowego
Punkt końcowy nr 1	Zgon, zawał serca, TVR
Punkt końcowy nr 2	Zgon, zawał serca, nieplanowana angioplastyka jakiegokolwiek naczynia wieńcowego (pilna lub elektywna)
Punkt końcowy nr 3	Zgon, zawał serca, nieplanowana angioplastyka jakiegokolwiek naczynia wieńcowego (pilna lub elektywna), niestabilna choroba wieńcowa
Punkt końcowy nr 4	Zgon, zawał serca, TVR lub niestabilna choroba wieńcowa
Punkt końcowy nr 5	CABG lub nieplanowana angioplastyka jakiegokolwiek naczynia wieńcowego (pilna lub elektywna)
Punkt końcowy nr 6	Przynajmniej jeden z prostych punktów końcowych

Tab. 25. Analizowane złożone punkty końcowe – podział.

5.1. Związek podstawowych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego z ryzykiem wystąpienia punktów końcowych w okresie obserwacji po zabiegu PTCA

W badanej podgrupie chorych, u których obserwowano wystąpienie złożonego punktu końcowego nr 1 (zgon z przyczyn sercowych, zawał serca lub rewaskularyzacja leczonego naczynia) po zabiegu planowej angioplastyki wieńcowej, statystycznie częściej występowało nadciśnienie tętnicze. Pozostałe czynniki ryzyka rozkładały się podobnie w obu grupach (Tab. 26).

Czynniki ryzyka	Chorzy bez incydentu (n=118)	Chorzy z pktm końcowym nr 1 (n=24)	p
Wiek (lata)	65±9	68±9	0.11
BMI (kg/m ²)	26.5±3.5	26.0±2.1	0.5
Cholesterol całkowity (mg%)	185±34	174±31	0.12
Cholesterol LDL (mg%)	112±36	104±31	0.4
Cholesterol HDL (mg%)	49±15	51±18	0.8
Trójglicerydy (mg%)	158±89	130±53	0.2
Glukoza na czczo (mg%)	104±28	105±21	0.97
Glukoza na czczo (mg%) (chorzy z cukrzycą)	131±33	116±23	0.24
Glukoza na czczo (mg%) (chorzy bez cukrzycy)	95±17	99±18	0.6
Nadciśnienie tętnicze (%)	68	92	0.017
Cukrzyca (%)	27	33	0.53
Tytoń (%)	5	0	0.26

Tab.26. Rozkład podstawowych czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca w grupach chorych (n=142) ze złożonym punktem końcowym nr 1 (definiowanym jako: zgon, zawał lub TVR) po zabiegu PTCA oraz bez incydentu wieńcowego

Podobną zależność obserwowano wśród chorych, u których wystąpił jakikolwiek prosty punkt końcowy (zgon sercowy, zawał serca, niestabilna choroba wieńcowa, konieczność wykonania angioplastyki jakiegokolwiek naczynia wieńcowego, konieczność rewaskularyzacji leczonego naczynia lub CABG).

W grupie chorych z incydem wieńcowym nadciśnienie tętnicze występowało istotnie częściej niż u osób bez incydem. Rozkład pozostałych czynników ryzyka był podobny w obu grupach (Tab. 27).

Czynniki ryzyka	Chorzy bez incydemu (n=90)	Chorzy z pktm końcowym nr 6 (n=52)	p
Wiek (lata)	66±9	65±9	0.8
BMI (kg/m ²)	26.5±3.4	26.1±3.3	0.4
Cholesterol całkowity (mg%)	186±34	180±34	0.3
Cholesterol LDL (mg%)	113±34	106±37	0.4
Cholesterol HDL (mg%)	53±16	47±15	0.14
Trójglicerydy (mg%)	155±88	151±80	0.8
Glukoza na czczo (mg%)	103±28	107±24	0.46
Glukoza na czczo (mg%) (chorzy z cukrzycą)	132±36	123±26	0.38
Glukoza na czczo (mg%) (chorzy bez cukrzycy)	94±17	98±17	0.26
Fracja wyrzutowa l. komory (%)	58±7	58±9	0.9
Nadciśnienie tętnicze (%)	64	85	0.01
Cukrzyca (%)	24	35	0.19
Tytoń (%)	4	4	0.86

Tab.27. Rozkład podstawowych czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca w grupach chorych (n=142) ze złożonym punktem końcowym nr 6 (zgon, zawał, niestabilna choroba wieńcowa, angioplastyka jakiegokolwiek naczynia, TVR, CABG) po zabiegu PTCA oraz bez incydem wieńcowego

Chorzy, u których doszło do zgonu w okresie obserwacji po planowej angioplastyce wieńcowej byli istotnie starsi od chorych, którzy przeżyli.

Chorzy ci wyróżniali się także niższą frakcją wyrzutową lewej komory. Pozostałe czynniki ryzyka rozkładały się podobnie w obu grupach (Tab. 28).

Czynniki ryzyka	Chorzy którzy przeżyli (n=134)	Chorzy którzy zginęli (n=8)	p
Wiek (lata)	65±9	72±8	0.027
BMI (kg/m ²)	26.4±3.4	26.3±2.7	0.95
Cholesterol całkowity (mg%)	185±35	168±15	0.2
Cholesterol LDL (mg%)	112±36	91±18	0.2
Cholesterol HDL (mg%)	50±16	48±19	0.8
Trójglicerydy (mg%)	153±85	148±77	0.9
Glukoza na czczo (mg%)	104±27	105±26	0.9
Glukoza na czczo (mg%) (chorzy z cukrzycą)	128±32	137±12	0.67
Glukoza na czczo (mg%) (chorzy bez cukrzycy)	95±17	94±18	0.88
Fracja wyrzutowa l. komory (%)	59±8	51±9	0.009
Nadciśnienie tętnicze (%)	71	87	0.3
Cukrzyca (%)	28	25	0.83
Tytoń (%)	4	0	0.54

Tab.28. Rozkład podstawowych czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca wśród chorych (n=142), którzy zginęli w okresie obserwacji oraz chorych, którzy przeżyli

Rozkład podstawowych czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca między grupami chorych, u których wystąpił epizod niestabilnej choroby wieńcowej i chorymi u których nie obserwowano takiego epizodu, nie różnił się istotnie poza poziomem cholesterolu całkowitego i poziomem frakcji LDL cholesterolu.

Chorzy z niestabilną chorobą wieńcową mieli istotnie wyższy poziom cholesterolu całkowitego i LDL niż chorzy, u których taki incydent nie wystąpił (Tab. 29).

Czynniki ryzyka	Chorzy bez UA (n=126)	Chorzy z UA (n=16)	p
Wiek (lata)	66±9	65±8	0.8
BMI (kg/m ²)	26.4±3.4	25.9±2.6	0.5
Cholesterol całkowity (mg%)	181±32	203±42	0.01
Cholesterol LDL (mg%)	107±32	131±49	0.046
Cholesterol HDL (mg%)	49±16	55±11	0.27
Trójglicerydy (mg%)	156±88	130±46	0.34
Glukoza na czczo (mg%)	105±28	100±15	0.48
Glukoza na czczo (mg%) (chorzy z cukrzycą)	130±32	112±19	0.29
Glukoza na czczo (mg%) (chorzy bez cukrzycy)	95±18	96±11	0.85
Frakcja wyrzutowa l. komory (%)	58±8	52±6	0.65
Nadciśnienie tętnicze (%)	71	75	0.76
Cukrzyca (%)	29	25	0.76
Tytoń (%)	5	0	0.37

Tab.29. Rozkład podstawowych czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca wśród chorych (n=142), u których wystąpił w czasie obserwacji incydent niestabilnej choroby wieńcowej (UA – unstable angina) oraz chorych bez takiego incydentu

Nadciśnienie występowało również częściej wśród chorych, u których wystąpił zgon, zawał serca lub kolejna, nieplanowana wcześniej angioplastyka jakiegokolwiek naczynia wieńcowego. Rozkład pozostałych czynników ryzyka był podobny w obu grupach (Tab. 30).

Czynniki ryzyka	Chorzy bez incydentu (n=109)	Chorzy z pktm końcowym nr 2 (n=33)	p
Wiek (lata)	65±9	66±9	0.38
BMI (kg/m ²)	26.4±3.5	26.3±2.7	0.38
Cholesterol całkowity (mg%)	184±33	181±36	0.72
Cholesterol LDL (mg%)	109±33	111±40	0.8
Cholesterol HDL (mg%)	50±15	49.8±16	0.9
Trójglicerydy (mg%)	159±90	136±63	0.27
Glukoza na czczo (mg%)	103±26	108±25	0.33
Glukoza na czczo (mg%) (chorzy z cukrzycą)	129±34	126±28	0.79
Glukoza na czczo (mg%) (chorzy bez cukrzycy)	94±17	98±17	0.36
Nadciśnienie tętnicze (%)	67	88	0.019
Cukrzyca (%)	26	36	0.23
Tytoń (%)	5	0	0.17

Tab.30. Rozkład podstawowych czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca w grupach chorych (n=142) z punktem końcowym nr 2 (definiowanym jako: zgon, zawał lub kolejne, nieplanowane PTCA jakiegokolwiek naczynia wieńcowego) po zabiegu PTCA oraz bez incydentu wieńcowego

Wśród pacjentów, którzy w okresie obserwacji wymagali rewaskularyzacji leczonego naczynia obserwowalem tendencję do częstszego występowania nadciśnienia tętniczego, różnica nie osiągnęła jednak istotności statystycznej. Pozostałe czynniki ryzyka rozkładały się podobnie w obu grupach (Tab. 31).

Czynniki ryzyka	Chorzy bez TVR (n=129)	Chorzy z TVR (n=13)	p
Wiek (lata)	65±9	67±8	0.43
BMI (kg/m ²)	26.5±3.4	25.2±1.7	0.16
Cholesterol całkowity (mg%)	183±34	187±33	0.7
Cholesterol LDL (mg%)	110±35	114±35	0.7
Cholesterol HDL (mg%)	49±15	55±18	0.26
Trójglicerydy (mg%)	157±87	119±45	0.17
Glukoza na czczo (mg%)	105±27	104±19	0.9
Glukoza na czczo (mg%) (chorzy z cukrzycą)	130±32	106±26	0.15
Glukoza na czczo (mg%) (chorzy bez cukrzycy)	95±17	102±17	0.19
Nadciśnienie tętnicze (%)	70	92	0.08
Cukrzyca (%)	30	31	0.82
Tytoń (%)	5	0	0.42

Tab.31. Rozkład podstawowych czynników ryzyka choroby wieńcowej wśród chorych (n=142), u których wystąpiła konieczność kolejnej rewaskularyzacji leczonego naczynia (TVR) oraz chorych bez TVR

Podobnie, u chorych kórzy wymagali w okresie obserwacji kolejnej, nieplanowanej angioplastyki występowała tendencja do częstszego występowania nadciśnienia, niż u chorych, którzy nie wymagali kolejnego zabiegu PTCA. Związek ten również nie osiągnął istotności statystycznej. Pozostałe czynniki ryzyka rozkładały się podobnie w obu grupach (Tab. 32).

Czynniki ryzyka	Chorzy bez kolejnego zabiegu PCI (n=120)	Chorzy z kolejnym zabiegiem PCI (n=22)	p
Wiek (lata)	66±9	65±9	0.9
BMI (kg/m ²)	26.4±3.4	26.1±2.9	0.6
Cholesterol całkowity (mg%)	182±33	191±40	0.25
Cholesterol LDL (mg%)	107±32	123±44	0.12
Cholesterol HDL (mg%)	49±15	51±16	0.7
Trójglicerydy (mg%)	156±88	137±62	0.42
Glukoza na czczo (mg%)	103±27	110±26	0.23
Glukoza na czczo (mg%) (chorzy z cukrzycą)	129±32	124±32	0.64
Glukoza na czczo (mg%) (chorzy bez cukrzycy)	94±17	102±16	0.15
Nadciśnienie tętnicze (%)	69	86	0.099
Cukrzyca (%)	26	41	0.15
Tytoń (%)	5	0	0.28

Tab.32. Rozkład podstawowych czynników ryzyka choroby wieńcowej wśród chorych (n=142), u których wystąpiła konieczność kolejnej rewaskularyzacji jakiegokolwiek naczynia za pomocą PTCA oraz chorych bez kolejnych procedur rewaskularyzacyjnych

U chorych, u których wystąpiła konieczność rewaskularyzacji (zarówno za pomocą CABG jak i PTCA) obserwowano nieistotną statystycznie tendencję do wyższych poziomów cholesterolu całkowitego oraz częstszego występowania nadciśnienia tętniczego i cukrzycy niż u chorych bez konieczności rewaskularyzacji. Pozostałe czynniki ryzyka rozkładały się podobnie w obu grupach (Tab. 33).

Czynniki ryzyka	Chorzy bez rewaskularyzacji (n=115)	Chorzy z pktm końcowym nr 5 (n=27)	p
Wiek (lata)	65±9	66±9	0.99
BMI (kg/m ²)	26.5±3.2	25.7±3.7	0.25
Cholesterol całkowity (mg%)	181±33	193±35	0.1
Cholesterol LDL (mg%)	106±33	120±39	0.15
Cholesterol HDL (mg%)	50±16	50±15	0.99
Trójglicerydy (mg%)	157±90	140±62	0.45
Glukoza na czczo (mg%)	103±27	108±26	0.4
Glukoza na czczo (mg%) (chorzy z cukrzycą)	130±32	122±32	0.45
Glukoza na czczo (mg%) (chorzy bez cukrzycy)	95±17	99±16	0.34
Nadciśnienie tętnicze (%)	68	85	0.08
Cukrzyca (%)	25	40	0.1
Tytoń (%)	5	0	0.22

Tab. 33. Rozkład podstawowych czynników ryzyka choroby wieńcowej wśród chorych (n=142), u których wystąpił punkt końcowy nr 5: konieczność kolejnej rewaskularyzacji (PTCA lub CABG) oraz chorych bez kolejnych procedur rewaskularyzacyjnych

5.2. Częstość występowania punktów końcowych w okresie obserwacji w wybranych grupach chorych po zabiegu PTCA

W badanej grupie w okresie obserwacji nie obserwowano istotnych różnic w częstości występowania złożonych i prostych punktów końcowych wśród chorych z implantowanym stentem i chorych po zwykłej angioplastyce balonowej (Tab. 34).

	Cała grupa (n=142)	POBA (n=57)	Stent (n=85)	P
Zgon, zawał, TVR	16.9% (24)	12.3% (7)	20.0% (17)	0.22
Zgon, zawał, UA, TVR	21.1% (30)	17.5% (10)	23.5% (20)	0.39
Zgon	5.6% (8)	5.3% (3)	5.9% (5)	0.9
Zawał	4.2% (6)	1.7% (1)	5.9% (5)	0.23
UA	11.2% (16)	15.8% (9)	8.2% (7)	0.16
PCI+CABG	19.0% (27)	22.8% (13)	16.5% (14)	0.34
TVR	9.1% (13)	7% (4)	10.6% (9)	0.47

Tab. 34. Częstość incydentów wieńcowych w czasie obserwacji w badanej grupie oraz w podgrupach z implantowanym stentem (stent) i zwykłą angioplastyką balonową (POBA)

W badanej grupie w okresie obserwacji obserwowano częstsze występowanie zgonu wśród chorych z przebyłym wcześniej zawałem mięśnia sercowego. Nie obserwowano znamienych różnic w częstości występowania innych złożonych i prostych punktów końcowych (Tab. 35).

	Cała grupa (n=142)	Chorzy bez zawału w wywiadzie (n=83)	Chorzy po przebyłym zawałe (n=59)	P
Zgon, zawał, TVR	16.9% (24)	12.0% (10)	23.7% (14)	0.06
Zgon, zawał, UA, TVR	21.1% (30)	18.1% (15)	25.4% (15)	0.29
Zgon, zawał, UA, PCI	23.2% (33)	18.1% (15)	30.5% (18)	0.08
Zgon	5.6% (8)	2.4% (2)	10.2% (6)	0.048
Zawał	4.2% (6)	3.6% (3)	5.1% (3)	0.67
UA	11.2% (16)	10.8% (9)	11.9% (7)	0.85
PCI+CABG	19.0% (27)	15.7% (13)	23.7% (14)	0.23
TVR	9.1% (13)	8.4% (7)	10.2% (6)	0.72

Tab. 35. Częstość incydentów wieńcowych w czasie obserwacji w badanej grupie oraz w podgrupach z przebyłym wcześniej zawałem mięśnia sercowego oraz bez zawału w wywiadzie

Częstość występowania złożonych punktów końcowych, a także zawału serca, zgonu z przyczyn sercowych oraz kolejnej rewaskularyzacji leczonego naczynia (TVR) nie różniła się między grupami kobiet i mężczyzn.

Częstość występowania niestabilnej choroby wieńcowej w badanej grupie była statystycznie większa wśród kobiet (Tab. 36).

	Kobiety (n=52)	Mężczyźni (n=90)	p
Zgon, zawał, TVR	17.3% (9)	16.7% (15)	0.9
Zgon, zawał, UA, TVR	25% (13)	18.9% (17)	0.39
Zgon	3.9% (2)	6.7% (6)	0.48
Zawał	1.9% (1)	5.5% (5)	0.3
UA	19.2% (3)	6.7% (6)	0.02
TVR	13.4% (7)	6.6% (6)	0.17

Tab. 36. Częstość incydentów wieńcowych w czasie obserwacji po zabiegu PCI w zależności od płci pacjenta

Częstość występowania złożonych i prostych punktów końcowych nie zmieniała się istotnie w zależności od poziomu glikemii na czczo w dniu zabiegu (Tab. 37).

	Glikemia ≤ 90 mg% (n=49)	Glikemia 90 < i ≥ 110 mg% (n=50)	Glikemia > 110 mg% (n=43)	p
Zgon, zawał, TVR	10% (5)	20% (10)	21% (9)	0.3
Zgon, zawał, UA, TVR	16% (8)	22% (11)	26% (11)	0.54
Punkt końcowy nr 6	27% (13)	42% (21)	42% (18)	0.19
Zgon	4% (2)	6% (3)	7% (3)	0.82
Zawał	2% (1)	2% (1)	9% (4)	0.14
UA	10% (5)	14% (7)	9% (4)	0.74
TVR	6% (3)	12% (6)	9% (4)	0.6

Tab. 37. Związek glikemii na czczo w dniu zabiegu (wśród wszystkich badanych chorych) z efektami odległymi zabiegu PCI

Przeprowadzono także podobną analizę tylko dla chorych bez cukrzycy. Częstość występowania złożonych i prostych punktów końcowych nie zmieniała się istotnie w zależności od poziomu glikemii na czczo w dniu zabiegu (Tab. 38).

	Glikemia ≤ 90 mg% (n=46)	Glikemia 90 < i ≤ 110 mg% (n=38)	Glikemia > 110 mg% (n=18)	p
Zgon, zawał, TVR	9% (4)	18% (7)	28% (5)	0.14
Zgon, zawał, UA, TVR	15% (7)	21% (8)	28% (5)	0.5
Punkt końcowy nr 1	24% (11)	42% (16)	39% (7)	0.18
Zgon	4% (2)	8% (3)	6% (1)	0.78
Zawał	2% (1)	0% (0)	11% (2)	0.06
UA	9% (4)	15% (6)	11% (2)	0.6
TVR	4% (2)	11% (4)	17% (3)	0.26

Tab. 38. Związek glikemii na czczo w dniu zabiegu (wśród chorych bez cukrzycy) z efektami odległymi zabiegu PCI

5.3. Polimorfizm *insercyjno/delecyjny* genu enzymu konwertującego angiotensynę I (*I/D ACE*), a incydenty wieńcowe po zabiegach PTCA

W badanej grupie 142 chorych stwierdzono następujący rozkład częstości genotypów polimorfizmu *I/D ACE*: *DD*-29%, *ID*-47% i *II*-24%, który pozostawał w zgodzie z równowagą Hardy-Weinberga. Poszczególne allele występowały z częstością: *D*-0.52, *I*-0.48.

Rozkład klasycznych czynników ryzyka choroby wieńcowej był niezależny od genotypów polimorfizmu *I/D* genu enzymu konwertującego (Tab.39).

Czynnik ryzyka	<i>DD</i>	<i>ID</i>	<i>II</i>	p
Wiek (lata)	67±8	64±10	66±8	0.07
BMI (kg/m ²)	25.6±3	26.6±3	26.8±3	0.18
Cholesterol całkowity (mg%)	185±33	177±32	193±36	0.07
Cholesterol LDL (mg%)	115±38	106±31	109±38	0.64
Cholesterol HDL (mg%)	47±11	51±16	52±19	0.52
Trójglicerydy (mg%)	153±78	151±89	141±49	0.84
Glukoza (mg%)	108±30	103±25	103±25	0.54
Nadciśnienie tętnicze (%)	76	75	62	0.3
Cukrzyca (%)	39	25	21	0.16
Tytoń (%)	7	1	6	0.3

Tab. 39. Rozkład genotypów polimorfizmu *I/D* genu *ACE*, a podst. czynniki ryzyka chorób ukł. sercowo-naczyniowego

Nie stwierdzono statystycznie znaczących różnic w rozkładach wariantów polimorficznych genu *ACE* między chorymi, u których wystąpił złożony punkt końcowy nr 1 (zgon, zawał lub rewaskularyzacja leczonego naczynia) i chorymi bez tego punktu końcowego w czasie obserwacji, ani w modelu recesywnym (*DD* vs *ID+II*) ani w modelu dominującym (*DD+ID* vs *II*) (tab.40).

	Chorzy z punktem końcowym nr 1	Chorzy bez incydentu
<i>DD</i> (n)	21% (5)	30% (36)
<i>ID</i> (n)	50% (12)	47% (55)
<i>II</i> (n)	29% (7)	23% (27)
Razem (n)	100% (24)	100% (118)
Częstość alleli <i>D/I</i>	0.45/0.55	0.54/0.46
OR <i>DD</i> vs <i>ID+II</i>	0.59 (95%CI, 0.21-1.75), p=0.34	
OR <i>DD+ID</i> vs <i>II</i>	0.72 (95%CI, 0.27-1.94), p=0.51	
OR <i>DD</i> vs <i>II</i>	0.53 (95%CI, 0.15-1.91, p=0.32	

Tab. 40. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *I/D* genu *ACE* w badanej grupie (n=142), a wystąpienie punktu końcowego nr 1 (zgon, zawał, TVR) w okresie obserwacji

Znamienne statystycznie różnice nie występowały także jeśli chodzi o rozpatrywanie innych rodzajów złożonych punktów końcowych.

Istotne różnice w rozkładzie genotypów występowały między grupą chorych, którzy zginęli w czasie obserwacji, a grupą osób, które przeżyły (Tab. 41).

	Chorzy którzy zginęli	Chorzy którzy przeżyli
<i>DD</i> (n)	12.5% (1)	30% (40)
<i>ID</i> (n)	25% (2)	48% (65)
<i>II</i> (n)	62.5% (5)	22% (29)
Razem (n)	100% (8)	100% (118)
Częstość alleli <i>D/I</i>	0.25/0.75	0.54/0.46
OR <i>DD</i> vs <i>ID+II</i>	0.33 (95%CI, 0.04-2.87), p=0.31	
OR <i>DD+ID</i> vs <i>II</i>	0.16 (95%CI, 0.03-0.74), p=0.018	
OR <i>DD</i> vs <i>II</i>	0.66 (95%CI, 0.21-2.12, p=0.49	

Tab. 41. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *I/D* genu *ACE* w badanej grupie (n=142), a zgon w okresie obserwacji.

Istotne statystycznie różnice w rozkładach genotypów między chorymi, którzy zginęli, a chorymi, którzy przeżyli okres obserwacji obserwowano tylko w modelu dominującym (*DD+ID* vs *II*) (Tab.40).

Różnice w rozkładzie genotypów nie występowały jeśli chodzi o rozpatrywanie innych prostych punktów końcowych.

5.4. Polimorfizm *A1166C* genu receptora dla angiotensyny II typu 1 (*A1166C AT1R*), a incydenty wieńcowe po zabiegu PTCA

W badanej grupie 142 chorych stwierdzono następujący rozkład częstości genotypów polimorfizmu *A1166C AT1R*: *CC*-6%, *AC*-39% i *AA*-55%, który pozostawał w zgodzie z równowagą Hardy-Weinberga. Poszczególne allele występowały z częstością: *C*-0.26 i *A*-0.74.

Rozkład klasycznych czynników ryzyka choroby wieńcowej poza częstszym występowaniem cukrzycy u homozygot *CC* był niezależny od genotypów polimorfizmu *A1166C AT1R* genu receptora typu 1 dla angiotensyny (Tab. 42).

Czynnik ryzyka	<i>AA</i>	<i>AC</i>	<i>CC</i>	p
Wiek (lata)	65±9	66±8	70±6	0.21
BMI (kg/m ²)	26.5±3	25.9±3	28.6±4	0.08
Cholesterol całkowity (mg%)	183±29	183±41	186±38	0.94
Cholesterol LDL (mg%)	103±28	119±40	101±46	0.14
Cholesterol HDL (mg%)	49±16	49±14	62±22	0.16
Trójglicerydy (mg%)	146±70	152±90	150±60	0.93
Glukoza (mg%)	103±24	106±31	106±24	0.81
Nadciśnienie tętnicze (%)	71	73	78	0.88
Cukrzyca (%)	26	26	67	0.03
Tytoń (%)	6	2	0	0.35

Tab. 42. Rozkład genotypów polimorfizmu *A1166C AT1R*, a podstawowe czynniki ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów polimorfizmu *A1166C* *AT1R* między chorymi z punktem końcowym nr 1 i chorymi, u których ten punkt nie wystąpił w okresie obserwacji (Tab. 43).

	Chorzy z punktem końcowym nr 1	Chorzy bez incydentu
<i>CC</i> (n)	8% (2)	6% (7)
<i>AC</i> (n)	38% (9)	39% (46)
<i>AA</i> (n)	54% (13)	55% (65)
Razem (n)	100% (24)	100% (118)
Częstość alleli <i>C/A</i>	0.27/0.73	0.25/0.75
OR <i>CC+AC</i> vs <i>AA</i>	1.03 (95%CI, 0.42-2.52), p=0.9	
OR <i>CC</i> vs <i>AC+AA</i>	1.96 (95%CI, 0.45-8.46), p=0.4	

Tab. 43. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *A1166C* genu *AT1R* w badanej grupie (n=142) a incydenty wieńcowe w okresie obserwacji (zgon, zawał, TVR).

Istotne statystycznie różnice nie występowały także jeśli chodzi o rozpatrywanie innych rodzajów złożonych punktów końcowych.

Znamienne różnice w rozkładzie genotypów nie występowały jeśli chodzi o rozpatrywanie prostych punktów końcowych.

5.5. Polimorfizm *M235T* genu angiotensynogenu (*M235T AGT*), a incydenty wieńcowe po zabiegach PTCA

W badanej grupie stwierdzono następujący rozkład częstości genotypów polimorfizmu *M235T* genu *AGT*: *MM*-65.5% (n=93), *MT*-21.1% (n=30) i *TT*-13.4% (n=19). Poszczególne allele występowały z częstością: *M*-0.76 i *T*-0.24. Rozkład ten nie jest zgodny z rozkładem Hardy-Weinberga.

Rozkład klasycznych czynników ryzyka choroby wieńcowej poza wyższym poziomem trójglicerydów i częstszym paleniem tytoniu u homozygot *TT* był niezależny od genotypów polimorfizmu *M235T* genu *AGT* (Tab. 55).

Czynnik ryzyka	<i>MM</i>	<i>MT</i>	<i>TT</i>	p
Wiek (lata)	67±9	64±9	62±9	0.08
BMI (kg/m ²)	26±3	26±3	27±4	0.98
Cholesterol całkowity (mg%)	184±34	180±33	187±37	0.76
Cholesterol LDL (mg%)	111±34	110±36	106±42	0.91
Cholesterol HDL (mg%)	51±14	50±13	45±22	0.4
Trójglicerydy (mg%)	140±63	135±57	208±124	0.007
Glukoza (mg%)	107±29	98±22	103±22	0.3
Nadciśnienie tętnicze (%)	69	70	89	0.18
Cukrzyca (%)	33	17	21	0.16
Tytoń (%)	3	0	16	0.02

Tab. 55. Rozkłady genotypów polimorfizmu *M235T* genu *AGT* a inne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów polimorfizmu *M235T* genu *AGT* między chorymi, u których wystąpił złożony punkt końcowy nr 1 (zgon, zawał lub rewaskularyzacja leczonego naczynia) i chorymi bez tego punktu końcowego w okresie obserwacji (Tab. 56).

	Chorzy z incydemem	Chorzy bez incydemu
<i>MM</i> (n)	16.66% (4)	22% (26)
<i>MT</i> (n)	66.66% (16)	65.3% (77)
<i>TT</i> (n)	16.66% (4)	12.7% (15)
Razem (n)	100% (24)	100% (118)
Częstość alleli T/M	0.5/0.5	0.45/0.55
OR <i>TT+MT</i> vs <i>MM</i>	0.93 (95%CI, 0.37-2.40), p=0.9	
OR <i>TT</i> vs <i>MM+MT</i>	1.37 (95%CI, 0.41-4.62), p=0.6	

Tab. 56. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *M235T* genu *AGT* w badanej grupie (n=142) a incydenty wieńcowe w okresie obserwacji (zgon, zawał, TVR)

Znamienne statystycznie różnice nie występowały również jeśli chodzi o analizowanie innych rodzajów złożonych punktów końcowych.

Istotne różnice w rozkładzie genotypów nie występowały także jeśli chodzi o rozpatrywanie prostych punktów końcowych.

5.6. Polimorfizm *C344T* genu syntazy aldosteronu (*C344T CYP11B2*), a incydenty wieńcowe po zabiegach PTCA

W badanej grupie stwierdzono następujący rozkład częstości genotypów polimorfizmu *C344T CYP11B2*: *TT*-23% (n=32), *TC*-54% (n=77) i *CC*-23% (n=33). Poszczególne allele występowały z częstością: *T*-0.504 i *C*-0.496. Rozkład ten jest zgodny z rozkładem Hardy-Weinberga.

Rozkład klasycznych czynników ryzyka choroby wieńcowej poza wyższym poziomem cholesterolu całkowitego i frakcji LDL u nosicieli allele *C* był niezależny od genotypów polimorfizmu *C344T* genu *CYP11B2* (Tab. 53).

Czynnik ryzyka	<i>TT</i>	<i>TC</i>	<i>CC</i>	p
Wiek (lata)	67±8	65±9	65±9	0.46
BMI (kg/m ²)	26±3	26±3	26±4	0.85
Cholesterol całkowity (mg%)	170±27	189±36	184±34	0.037
Cholesterol LDL (mg%)	87±25	118±36	114±34	0.009
Cholesterol HDL (mg%)	49±17	50±17	50±11	0.96
Trójglicerydy (mg%)	177±89	145±76	134±62	0.17
Glukoza (mg%)	106±31	105±26	102±22	0.75
Nadciśnienie tętnicze (%)	75	70	73	0.86
Cukrzyca (%)	41	23	27	0.18
Tytoń (%)	6	4	3	0.79

Tab. 53. Rozkłady genotypów polimorfizmu *C344T* genu *CYP11B2* a inne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów polimorfizmu *C344T* genu *CYP11B2* między chorymi, u których wystąpił złożony punkt końcowy nr 1 (zgon, zawał lub rewaskularyzacja leczonego naczynia) i chorymi bez tego punktu końcowego w okresie obserwacji (Tab. 54).

	Chorzy z pktm końcowym nr 1	Chorzy bez incydentu
<i>TT</i> (n)	16.7% (4)	23.7% (28)
<i>TC</i> (n)	58.3% (14)	53.4% (63)
<i>CC</i> (n)	25% (6)	22.9% (27)
Razem (n)	100% (24)	100% (118)
Częstość alleli <i>C/T</i>	0.54/0.46	0.496/0.504
OR <i>TT+TC</i> vs <i>CC</i>	0.85 (95%CI, 0.30-2.38), p=0.75	
OR <i>TT+TC</i> vs <i>CC</i> *	0.85 (95%CI, 0.30-2.41), p=0.76	
OR <i>TT</i> vs <i>CC+TC</i>	0.63 (95%CI, 0.22-1.82), p=0.39	
OR <i>TT</i> vs <i>CC+TC</i> *	0.53 (95%CI, 0.16-1.74), p=0.29	

* iloraz szans po skorygowaniu o poziom cholesterolu całkowitego

Tab. 54. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *C344T* genu *CYP11B2* w badanej grupie (n=142) a incydenty wieńcowe w okresie obserwacji (zgon, zawał, TVR)

Istotnych różnic nie obserwowano także jeśli chodzi o rozpatrywanie innych rodzajów złożonych punktów końcowych.

Znamienne statystycznie różnice w rozkładzie genotypów nie występowały również jeśli chodzi o analizę prostych punktów końcowych.

5.7. Polimorfizm *Leu33/Pro* genu glikoproteiny płytkowej (*PLA1/PLA2 GPIIIa*), a incydenty wieńcowe po zabiegach PTCA

W badanej grupie 142 chorych stwierdzono następujący rozkład częstości genotypów polimorfizmu *PLA1/PLA2 GPIIIa*: *PLA2A2*-4.0% (n=6), *PLA1A2*-27% (n=38) i *PLA1A1*-69% (n=98), który pozostawał w zgodzie z równowagą Hardy-Weinberga. Poszczególne allele występowały z częstością: *PLA1*- 0.81, *PLA2*- 0.19.

Ze względu na małą częstość występowania allelu *PLA2* a szczególnie homozygotycznego genotypu *PLA2A2* (tylko 6 chorych), wszystkie analizy statystyczne wykonano dla modelu *PLA2A2+PLA1A2* vs *PLA1A1*.

Nie obserwowano istotnego związku pomiędzy polimorfizmem *PLA1/PLA2 GPIIIa* a klasycznymi czynnikami ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego (Tab. 44).

Czynnik ryzyka	<i>PLA1A1</i>	<i>PLA1A2</i>	<i>PLA2A2</i>	p
Wiek (lata)	64±9	69±8	66±9	0.1
BMI (kg/m ²)	26.5±3.4	26.3±3.3	24.8±3	0.5
Cholesterol całkowity (mg%)	183±38	187±31	178±31	0.7
Cholesterol LDL (mg%)	110±36	116±34	125±8.5	0.4
Cholesterol HDL (mg%)	48±16	57±15	50±12	0.1
Trójglicerydy (mg%)	156±81	131±47	138±52	0.4
Glukoza (mg%)	105±29	103±21	110±22	0.8
Nadciśnienie tętnicze (%)	69	79	67	0.5
Cukrzyca (%)	28	29	33	0.9
Tytoń (%)	5	3	0	0.7

Tab. 44. Rozkład czynników ryzyka choroby wieńcowej a polimorfizm *PLA1/PLA2* genu *GPIIIa*

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów polimorfizmu *PLA1/PLA2* genu *GPIIIa* między chorymi u których wystąpił złożony punkt końcowy nr 1 (zgon, zawał lub rewaskularyzacja leczonego naczynia) i chorymi bez tego punktu końcowego w czasie obserwacji (Tab. 45).

Istotne statystycznie różnice nie występowały także jeśli chodzi o rozpatrywanie innych rodzajów złożonych punktów końcowych.

	Chorzy z punktem kończącym nr 1	Chorzy bez incydentu
<i>PLA2A2</i> (n)	4.2% (1)	4.2% (5)
<i>PLA1A2</i> (n)	33.3% (8)	25.4% (30)
<i>PLA1A1</i> (n)	62.5% (15)	70.4% (83)
Razem % (n)	100% (24)	100% (118)
Częstość alleli <i>PLA2/PLA2</i>	0.21/0.79	0.17/0.83
OR <i>PLA2A2+PLA1A2</i> vs <i>PLA1A1</i>	1.42 (95%CI, 0.56-3.58), p=0.45	

Tab. 45. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *PLA1/PLA2* genu *GPIIIa* w badanej grupie (n=142) a incydynty wieńcowe w okresie obserwacji (zgon, zawał, TVR)

W badanej grupie obserwowano tendencję do częstszego występowania zgonów u nosicieli allele *A2* (Tab. 46).

	Chorzy którzy zginęli	Chorzy którzy przeżyli
<i>PLA2A2</i> (n)	0% (0)	4.5% (6)
<i>PLA1A2</i> (n)	62.5% (5)	24.6% (33)
<i>PLA1A1</i> (n)	37.5% (3)	70.9% (95)
Razem % (n)	100% (8)	100% (134)
Częstość alleli <i>PLA2/PLA2</i>	0.31/0.69	0.17/0.83
OR <i>PLA2A2+PLA1A2</i> vs <i>PLA1A1</i>	4.05 (95%CI, 0.91-18.0), p=0.06	

Tab. 46. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *PLA1/PLA2* genu *GPIIIa* w badanej grupie (n=142) a zgon w okresie obserwacji

Nie obserwowano istotnych statystycznie różnic w rozkładzie genotypów jeśli chodzi o rozpatrywanie innych prostych punktów końcowych.

5.8. Polimorfizm *G460W* genu alfa adducyny (*G460W ADD1*), a incydenty wieńcowe po zabiegach PTCA

W badanej grupie stwierdzono następujący rozkład częstości genotypów polimorfizmu *G460W* genu *ADD1*: *GG*-70.4% (n=100), *GW*-26.8% (n=38) i *WW*-2.8% (n=4). Poszczególne allele występowały z częstością: *G*-0.84 i *W*-0.16. Rozkład ten jest zgodny z rozkładem Hardy-Weinberga.

Ze względu na małą częstość występowania allelu *W* a szczególnie homozygotycznego genotypu *WW* (tylko 6 chorych), wszystkie analizy statystyczne wykonano dla modelu *GG* vs *GW+WW*.

Rozkład klasycznych czynników ryzyka choroby wieńcowej był niezależny od genotypów polimorfizmu *G460W* genu *ADD1* (Tab. 57).

Czynnik ryzyka	<i>GG</i>	<i>GW</i>	<i>WW</i>	p
Wiek (lata)	66±9	66±9	63±13	0.87
BMI (kg/m ²)	27±4	26±3	28±3	0.28
Cholesterol całkowity (mg%)	185±37	177±26	205±33	0.21
Cholesterol LDL (mg%)	114±36	100±34	135±27	0.14
Cholesterol HDL (mg%)	50±16	51±16	45±9	0.82
Trójglicerydy (mg%)	138±61	167±99	207±113	0.11
Glukoza (mg%)	106±29	100±21	109±18	0.51
Nadciśnienie tętnicze (%)	71	74	75	0.94
Cukrzyca (%)	26	34	25	0.62
Tytoń (%)	4	5	0	0.86

Tab. 57. Rozkłady genotypów polimorfizmu *G460W* genu *ADD1* a inne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów polimorfizmu *G460W* genu *ADD1* między chorymi z incydem wieńcowym i bez incydem w okresie obserwacji (Tab. 58).

	Chorzy z incydem	Chorzy bez incydem
<i>GG</i> (n)	70.8% (17)	70.3% (83)
<i>GW</i> (n)	25% (6)	27.1% (32)
<i>WW</i> (n)	4.2% (1)	2.6% (15)
Razem (n)	100% (24)	100% (118)
Częstość alleli <i>G/W</i>	0.83/0.17	0.76/0.24
OR <i>GG</i> vs <i>GW+WW</i>	1.02 (95%CI, 0.39-2.69), p=0.96	

Tab. 58. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *G460W* genu *ADD1* w badanej grupie (n=142) a incydem wieńcowe w okresie obserwacji (zgon, zawał, TVR)

Znamienne różnice nie występowały także jeśli chodzi o badanie innych rodzajów złożonych punktów końcowych.

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładzie genotypów także jeśli chodzi o rozpatrywanie prostych punktów końcowych.

5.9. Polimorfizm *C825T* genu podjednostki beta-3 białka G (*C825T GNB-3*), a incydenty wieńcowe po zabiegach PTCA

W badanej grupie stwierdzono następujący rozkład częstości genotypów polimorfizmu *C825T GNB-3*: *TT*-12% (n=17), *TC*-38.7% (n=55) i *CC*-49.3% (n=70). Poszczególne allele występowały z częstością: *T*-0.31 i *C*-0.69. Rozkład ten jest zgodny z rozkładem Hardy-Weinberga.

Rozkład klasycznych czynników ryzyka choroby wieńcowej poza wyższym poziomem cholesterolu całkowitego u nosicieli allele *TT* był niezależny od genotypów polimorfizmu *C825T* genu *GNB-3* (Tab. 50).

Czynnik ryzyka	<i>TT</i>	<i>TC</i>	<i>CC</i>	p
Wiek (lata)	66±9	67±9	65±9	0.35
BMI (kg/m ²)	27±4	26±3	26.6±3	0.48
Cholesterol całkowity (mg%)	202±34	183±32	180±34	0.048
Cholesterol LDL (mg%)	126±33	109±36	107±35	0.35
Cholesterol HDL (mg%)	47±12	50±16	51±17	0.82
Trójglicerydy (mg%)	179±99	152±79	139±69	0.29
Glukoza (mg%)	107±33	102±20	106±30	0.71
Nadciśnienie tętnicze (%)	76	69	73	0.81
Cukrzyca (%)	24	35	24	0.4
Tytoń (%)	0	5	4	0.62

Tab. 50. Rozkłady genotypów polimorfizmu *C825T GNB-3* a inne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów polimorfizmu *C825T* genu *GNB-3* między chorymi między chorymi, u których wystąpił złożony punkt końcowy nr 1 (zgon, zawał lub rewaskularyzacja leczonego naczynia) i chorymi bez tego punktu końcowego w okresie obserwacji (Tab. 51).

	Chorzy z punktem końcowym nr 1	Chorzy bez incydentu
<i>TT</i> (n)	8.3% (2)	12.7% (15)
<i>TC</i> (n)	50% (12)	36.4% (43)
<i>CC</i> (n)	41.7% (10)	50.9% (60)
Razem (n)	100% (24)	100% (118)
Częstość alleli <i>C/T</i>	0.67/0.33	0.69/0.31
OR <i>TT+TC</i> vs <i>CC</i>	1.5 (95%CI, 0.61-3.67), p=0.37	
OR <i>TT+TC</i> vs <i>CC</i> *	1.67 (95%CI, 0.67-4.18), p=0.26	
OR <i>TT</i> vs <i>CC+TC</i>	0.62 (95%CI, 0.13-2.97), p=0.55	
OR <i>TT</i> vs <i>CC+TC</i> *	0.77 (95%CI, 0.16-3.80), p=0.75	

* iloraz szans po skorygowaniu o poziom cholesterolu całkowitego

Tab. 51. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *C825T* genu *GNB-3* w badanej grupie (n=142) a incydynty wieńcowe w okresie obserwacji (zgon, zawał, TVR)

Tendencje do różnego rozkładu genotypów występowały między grupą chorych, u których wystąpił złożony punkt końcowy nr 6 (zgon, zawał, TVR, PTCA jakiegokolwiek naczynia, niestabilna choroba wieńcowa lub CABG), a chorymi u których nie wystąpił żaden incydent w analizie dla modelu *TT+TC* vs *CC* (Tab. 52).

	Chorzy z incydemem	Chorzy bez incydemu
<i>TT</i> (n)	15.4% (8)	10% (9)
<i>TC</i> (n)	44.2% (23)	35.6% (32)
<i>CC</i> (n)	40.4% (21)	54.4% (49)
Razem (n)	100% (52)	100% (90)
Częstość alleli <i>C/T</i>	0.63/0.37	0.72/0.28
OR <i>TT+TC</i> vs <i>CC</i>	1.84 (95%CI, 0.91-3.71), p=0.08	
OR <i>TT+TC</i> vs <i>CC</i> *	1.97 (95%CI, 0.97-4.01), p=0.06	
OR <i>TT</i> vs <i>TC+CC</i>	1.64 (95%CI, 0.58-4.58), p=0.34	
OR <i>TT</i> vs <i>TC+CC</i> *	1.91 (95%CI, 0.66-5.55), p=0.23	

* iloraz szans po skorygowaniu o poziom cholesterolu całkowitego

Tab. 52. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *C825T GNB-3* w badanej grupie (n=142) a występowanie jakiegokolwiek punktu końcowego w okresie obserwacji.

Istotne statystycznie różnice nie występowały jeśli chodzi o rozpatrywanie innych rodzajów złożonych punktów końcowych.

Znamienne różnice w rozkładzie genotypów nie występowały również jeśli chodzi o rozpatrywanie prostych punktów końcowych.

5.10. Polimorfizm *T2238C* genu przedsiorkowego peptydu natriuretycznego (*ScaI A2/A1 ANP*), a incydenty wieńcowe po zabiegach PTCA

W badanej grupie stwierdzono następujący rozkład częstości genotypów polimorfizmu *ScaI A2/A1 ANP*: *A2A2*-72.5% (n=103), *A1A2*-23.2% (n=33) i *A1A1*-4.3% (n=6). Poszczególne allele występowały z częstością: *A2*-0.84 i *A1*-0.16. Rozkład ten jest zgodny z rozkładem Hardy-Weinberga.

Ze względu na małą częstość występowania allelu *ScaI A1* a szczególnie homozygotycznego genotypu *ScaI A1A1* (tylko 6 chorych), wszystkie analizy statystyczne wykonano dla modelu *ScaI A2A2* vs *A1A1* + *A1A2*.

W badanej grupie obserwowano częstsze występowanie cukrzycy wśród chorych z genotypem *A1A1* (Tab. 47).

Czynnik ryzyka	<i>A1A1</i>	<i>A1A2</i>	<i>A2A2</i>	p
Wiek (lata)	70±4	63±10	66±9	0.09
BMI (kg/m ²)	26±2	26±3	26±4	0.93
Cholesterol całkowity (mg%)	179±35	180±38	185±33	0.67
Cholesterol LDL (mg%)	91±14	115±41	110±35	0.48
Cholesterol HDL (mg%)	60±29	48±14	50±10	0.37
Trójglicerydy (mg%)	124±62	140±62	154±82	0.63
Glukoza (mg%)	107±29	102±23	105±28	0.77
Nadciśnienie tętnicze (%)	100	70	71	0.29
Cukrzyca (%)	50	12	32	0.04
Tytoń (%)	0	3	5	0.78

Tab. 47. Rozkłady genotypów polimorfizmu *ScaI A2/A1 ANP* a inne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego

Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów polimorfizmu *ScaI ANP* między chorymi, u których wystąpił złożony punkt końcowy nr 1 (zgon, zawał lub rewaskularyzacja leczonego naczynia) i chorymi bez tego punktu końcowego w okresie obserwacji (Tab. 48).

	Chorzy z incydemem	Chorzy bez incydemu
<i>A2A2</i> (n)	66.6% (16)	73.7% (87)
<i>A1A2</i> (n)	16.6% (4)	24.6% (29)
<i>A1A1</i> (n)	16.6% (4)	1.7% (2)
Razem (n)	100% (24)	100% (118)
Częstość alleli <i>A2/A1</i>	0.75/0.25	0.86/0.14
OR <i>A2A2</i> vs <i>A1A2+A1A1</i>	0.71 (95%CI, 0.27-1.84), p=0.48	
OR <i>A2A2</i> vs <i>A1A2+A1A1</i> *	0.57 (95%CI, 0.24-1.37), p=0.2	

* iloraz szans po skorygowaniu o poziom glukozy na czczo w dniu zabiegu

Tab. 48. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *ScaI ANP* w badanej grupie (n=142), a występowanie incydemów wieńcowych w okresie obserwacji (zgon, zawał, TVR)

Tendencje do różnego rozkładu genotypów występowały między grupą chorych, u których wystąpił złożony punkt końcowy nr 6 (zgon, zawał, TVR, PTCA jakiegokolwiek naczynia, niestabilna choroba wieńcowa, CABG), a chorymi u których nie wystąpił żaden incydent (Tab. 49).

	Chorzy z incydemem	Chorzy bez incydemem
<i>A2A2</i> (n)	63.5% (33)	77.8% (70)
<i>A1A2</i> (n)	26.9% (14)	21.1% (19)
<i>A1A1</i> (n)	9.6% (3)	1.1% (1)
Razem (n)	100% (52)	100% (90)
Częstość alleli <i>A2/A1</i>	0.8/0.2	0.88/0.12
OR <i>A2A2</i> vs <i>A1A2+A1A1</i>	0.5 (95%CI, 0.23-1.05), p=0.07	
OR <i>A2A2</i> vs <i>A1A2+A1A1</i> *	0.49 (95%CI, 0.23-1.04), p=0.06	

* iloraz szans po skorygowaniu o poziom glukozy

Tab. 49. Rozkłady genotypów i alleli polimorfizmu *Scal ANP* w badanej grupie (n=142) a występowanie jakiegokolwiek punktu końcowego w okresie obserwacji

Statystycznie istotne różnice nie występowały jeśli chodzi o rozpatrywanie innych rodzajów złożonych punktów końcowych.

Znamiennych różnic w rozkładzie genotypów nie obserwowałem również jeśli chodzi o rozpatrywanie prostych punktów końcowych.

VI. DYSKUSJA

6.1. Wprowadzenie

Odkrycie przez Watsona i Cricka kodu genetycznego opierającego się na sekwencji nukleotydów DNA, jest niezaprzeczalnie jednym z największych osiągnięć w historii biologii i medycyny. W każdej specjalności medycznej, w tym w kardiologii odkrycia badaczy na polu genetyki i biologii molekularnej stają się podstawową wiedzą, która jest niezbędna do prawidłowej diagnostyki, a co za tym idzie leczenia pacjentów. Powrót do zdrowia chorego nie jest jednak jedyną (choć najprawdopodobniej najważniejszą) korzyścią. Badania genetyczne mogą stać się w niektórych jednostkach chorobowych potężnym orężem pozwalającym na zidentyfikowanie osób zagrożonych niektórymi chorobami i objęcie ich zarówno lepszą kontrolą, jak i odpowiednio wczesną i adekwatną terapią, co w pewnych przypadkach może zapobiec rozwinięciu się choroby lub jej skutków. Badania te zatem mogły by odegrać istotną rolę profilaktyczną. Perspektywa możliwości zastosowania tych badań w profilaktyce spowodowała znaczne zainteresowanie naukowców z całego świata poszukiwaniem genetycznych czynników ryzyka oraz rozwojem technik molekularnych umożliwiających ich łatwe i stosunkowo tanie identyfikowanie.

Jest rzeczą oczywistą, że choroby i ich skutki niosą za sobą cierpienie pacjenta i jego bliskich. Należy jednak pamiętać o tym, że wiąże się to również z kosztami społecznymi. Jest to szczególnie istotne w przypadku chorób układu sercowo-naczyniowego, które z racji swojej częstości występowania są powodem znacznego obciążenia budżetów większości państw średnio i wysoko rozwiniętych.

Polimorfizmy genetyczne są dość łatwo identyfikowalne i występują w organizmie danego człowieka stale, przez całe życie. Różni je to od chociażby poziomu cholesterolu lub glukozy, które mogą u chorego okresowo przyjmować wartości prawidłowe. Może to skutkować tym, że taką osobę, mimo tego, że w rzeczywistości ma powyższe czynniki ryzyka, zidentyfikujemy jako wolną od nich. Polimorfizmy genetyczne mają jeszcze jedną bardzo atrakcyjną cechę dla lekarzy zajmujących się profilaktyką: ich ewentualną obecność można wykryć praktycznie na początku życia każdego człowieka. Pozwala to na potencjalnie bardzo wczesną identyfikację osób zagrożonych.

Aby polimorfizmy genetyczne stały się przydatne w profilaktyce chorób układu sercowo-naczyniowego, muszą odgrywać istotną rolę w patogenezie tych chorób. Odkrycie takich nie budzących wątpliwości związków, uczyniłoby z identyfikacji polimorfizmów

genetycznych jako czynników ryzyka, idealne narzędzie do walki z chorobami cywilizacyjnymi jakimi są np. choroba wieńcowa, nadciśnienie tętnicze i cukrzyca.

6.2. Częstość występowania punktów końcowych w badanej grupie w okresie obserwacji

Częstość wystąpienia jakiegokolwiek punktu końcowego (zgon sercowy, zawał serca, niestabilna choroba wieńcowa, konieczność wykonania angioplastyki jakiegokolwiek naczynia wieńcowego, konieczność rewaskularyzacji leczonego naczynia lub CABG) w badanej przez mnie grupie w relatywnie długim okresie obserwacji (średni czas obserwacji wyniósł 44 ± 13 miesiące) wynosiła 36.6%. Ponad połowę tych zdarzeń stanowiła konieczność wykonania kolejnej, nieplanowanej procedury rewaskularyzacyjnej zarówno pod postacią PTCA jak i CABG, wynikającej z zawału serca czy też zaostrzenia objawów stenokardialnych.

Wystąpienie, określonego przez mnie jako podstawowego, złożonego punktu końcowego (zgon z przyczyn sercowych, zawał serca lub rewaskularyzacja leczonego naczynia) u chorych po zabiegu planowej angioplastyki wieńcowej obserwowałem u 16.9% badanych osób. Częstość wystąpienia wyżej opisanego punktu końcowego nie różniła się istotnie między grupami optymalnej angioplastyki balonowej i implantowanego stentu. Obserwowałem jednak tendencję do częstszego występowania tego punktu końcowego wśród chorych z wcześniej przeżytym zawałem serca (12% vs 23.7%, $p=0.06$).

W badanej grupie, w czasie obserwacji, zgon wystąpił u 5.6% chorych. Nie obserwowałem istotnych różnic w częstości zgonów między grupą chorych z implantowanym stentem, a grupą angioplastyki balonowej. Istniała jednak istotna różnica między grupą chorych z przeżytym zawałem mięśnia sercowego i grupą chorych bez zawału w wywiadzie. Ponad 10% pacjentów, którzy wcześniej przeszli zawał serca zginęło w okresie obserwacji. W grupie bez zawału nastąpiło 2.4% zgonów ($p<0.05$).

Zawał serca wystąpił u 4.2% obserwowanych pacjentów. W tym przypadku również nie było różnicy między grupą chorych ze stentem, a grupą osób poddanych angioplastyce balonowej.

Trzeba zwrócić uwagę na to, że w przeważającej większości doniesień, implantacja stentu w trakcie zabiegu angioplastyki wieńcowej powodowała rzadsze występowanie kolejnych incydentów wieńcowych i rzadszą konieczność rewaskularyzacji leczonego naczynia (TVR – target vessel revascularization). Wyniki uzyskane w badanej przez mnie grupie chorych mogą wynikać ze stosunkowo niskiej liczebności grupy i selekcji chorych

niskiego ryzyka, co wiązało się z niską częstością występowania incydentów sercowo-naczyniowych. Należy pamiętać o tym, że do badania włączani byli chorzy, którzy w dniu zabiegu mieli tylko jedno istotne zwężenie w tętnicach wieńcowych. Nie wyklucza to oczywiście istnienia innych zmian organicznych, niewidocznych lub zakwalifikowanych przez operatora w czasie koronarografii jako nie wymagające zaopatrzenia, a które wraz z czasem mogły ograniczać przepływ w tętnicach wieńcowych i wymagać interwencji kardiologa inwazyjnego lub kardiochirurga.

Częstość implantowania stentów w badanej grupie wyniosła nieco poniżej 60%. W 2003 roku w Pracowni Kardioangiologii Inwazyjnej AM w Gdańsku wśród wszystkich leczonych pacjentów częstość ta wynosiła ponad 70%. Pozwala to przypuszczać, że w badanej grupie nieco częściej, niż zwykle w opisywanym okresie, zaopatrywane były zmiany organiczne niosące ze sobą, w ocenie lekarza wykonującego zabieg PTCA, niższe ryzyko restenozy i nie wymagające implantacji stentu. Ponadto wyniki analizy częstości incydentów sercowo-naczyniowych wskazują na to, że z biegiem lat w I Katedrze i Klinice Kardiologii AM w Gdańsku obserwowano istotnie statystycznie zmniejszenie częstości występowania złożonego punktu końcowego (zgon, zawał serca, TVR) po zabiegach wykonanych w latach 2000-01 (15%) w stosunku do zabiegów wykonanych przed rokiem 2000 (38%), zatem odsetek tych incydentów w badanej przez mnie grupie (17%) wydaje się być zgodny z rzeczywistością i podobny jak w statystykach światowych [164].

Tego, że badana grupa była grupą niskiego ryzyka dowodzi to, że wśród chorych poziom cholesterolu i glukozy na czczo był stosunkowo niski. Świadczyć to może także o tym, że chorzy ci byli poddani intensywnej prewencji i farmakoterapii.

Ponieważ częstość restenozy w badanej grupie była niska i wynosiła nieco ponad 9%, a większość kolejnych interwencji wieńcowych związana była z pojawieniem się nowych istotnych zwężeń w innym niż poszerzane pierwotnie miejsce, to można się spodziewać, że uzyskane wyniki będą zależały w głównej mierze uznanych czynników ryzyka rozwoju choroby wieńcowej czyli nadciśnienia tętniczego, hipercholesterolemii i cukrzycy, wskaźnika BMI, palenia tytoniu, płci męskiej i wieku. Rozkład podstawowych czynników ryzyka choroby wieńcowej jednak nie miał wpływu w większości przeprowadzonych przez mnie analiz na występowanie złożonych ani prostych punktów końcowych w czasie obserwacji. Wyjątkiem było nadciśnienie tętnicze, którego obecność w sposób istotny statystycznie determinowała, częstsze występowanie większości ustalonych przez mnie złożonych punktów końcowych.

Na częstość występowania wybranych punktów końcowych istotny wpływ miał wiek zmarłych w czasie obserwacji pacjentów oraz funkcja skurczowa lewej komory mięśnia sercowego. Chorzy, którzy zginęli mieli istotnie niższą frakcję wyrzutową lewej komory serca i byli starsi niż osoby, które przeżyły, co jest zgodne ze światowym piśmiennictwem i doświadczeniem klinicznym.

Wyższy poziom cholesterolu całkowitego i frakcji LDL w badanej grupie chorych miał istotny wpływ jedynie na wystąpienie epizodu niestabilnej choroby wieńcowej. Może to świadczyć o tym, że chorzy, leczeni mniej intensywnie lub z nieco mniejszym efektem, czyli wyższym od dolełowego w prewencji wtórnej stężeniem cholesterolu całkowitego, są bardziej narażeni na zaostrzenie objawów choroby wieńcowej wynikające z rozwoju miażdżycy tętnic wieńcowych. W grupach wymagających kolejnej, nieplanowanej interwencji na tętnicach wieńcowych obserwowałem nieco wyższy poziom cholesterolu całkowitego i LDL – nie były to jednak różnice istotne statystycznie.

W większości opublikowanych badań cukrzyca (lub zaburzenia gospodarki węglowodanowej) była istotnym, niekorzystnym czynnikiem rokowniczym u chorych po zabiegach angioplastyki. Obecność rozpoznania cukrzycy w badanej grupie chorych była częstsza wśród pacjentów, którzy wymagali kolejnej nieplanowanej interwencji na tętnicach wieńcowych, zarówno pod postacią PTCA jak i CABG. Różnice te jednak nie osiągnęły poziomu istotności statystycznej. Obserwowano także większą częstość występowania dwóch złożonych punktów końcowych, opisanych jako punkt końcowy nr 1 i nr 4 (tab. 25), im wyższy był poziom glukozy na czczo w dniu badania. Podobna zależność dotyczyła występowania prostych punktów końcowych pod postacią zgonu i zawału serca. Jednak również w tym przypadku różnice nie były istotne statystycznie.

Z pośród pozostałych czynników ryzyka należy także zwrócić na niską deklarowaną częstość palenia tytoniu. Wynik nieco ponad 4% wydaje się zbyt niski. Niestety nie miałem możliwości potwierdzenia faktu rzucenia palenia przez pacjentów obiektywnym testem.

6.3. Polimorfizm insercyjno/delecyjny genu enzymu konwertującego angiotensynę I (*I/D ACE*)

Ponieważ wcześniej opisana rola angiotensyny II i enzymu konwertującego angiotensynę jest bardzo ważna dla funkcjonowania układu sercowo-naczyniowego, skłoniło to badaczy do poszukiwania związku między aktywnością ACE i występowaniem niektórych chorób układu krążenia (w tym rozwoju choroby wieńcowej) a także indukcji ACE w

neointimie jako reakcji naczyń na zabieg angioplastyki. Wykazano, iż zwiększa się stężenie ACE oraz liczba receptorów dla angiotensyny II w miejscu zabiegu [165].

W badanej przez mnie grupie częstość występowania poszczególnych genotypów polimorfizmu *I/D ACE* nie odbiegała od opisywanych wcześniej częstości w populacji europejskiej i wynosiła *DD*-29%, *ID*-47% i *II*-24%. Wśród badanych przez mnie chorych rozkład podstawowych czynników ryzyka był niezależny od genotypów polimorfizmu *I/D* genu enzymu konwertującego. Nie stwierdziłem także, aby rozkład genotypów wśród badanych chorych różnił się istotnie w grupach z różnie definiowanymi punktami końcowymi. Obserwowałem jedynie rzadsze występowanie zgonów z przyczyn sercowych wśród nosicieli allele *D*. Istotnie statystycznie różnice w rozkładach genotypów między chorymi, którzy zginęli, a chorymi, którzy przeżyli okres obserwacji obserwowano tylko w modelu dominującym (*DD+ID* vs *II*) a iloraz szans wynosił $OR=0.16$ (95%CI, 0.03-0.74; $p<0.02$).

Mimo, że w większości badań obecność allele *D* wiązała się z częstszym występowaniem niektórych chorób serca i restenozy, to znane są także badania, w których związku takiego niepotwierdzano oraz takie, w których obserwowano ochronny wpływ allele *D* i wykazano, iż stosowanie ACEI u chorych po angioplastyce obciążonych cukrzycą, będących nosicielami allele *D* może zmniejszyć częstość występowania restenozy w stencie [166] lub zmniejsza niekorzystną reakcję tętnicy wieńcowej na zabieg PCI.

Ze względu na sprzeczne doniesienia światowej literatury oraz brak jednoznacznych powiązań między rozkładem genotypów *I/D ACE* w badanej przez mnie grupie, a incydentami wieńcowymi wydaje się, że ze opisywany polimorfizm nie ma istotnego wpływu na występowanie incydentów wieńcowych i rokowanie chorych po planowych zabiegach angioplastyki wieńcowej.

6.4. Polimorfizm *A1166C* genu receptora AT1 (*A1166C AT1R*)

Polimorfizm genu receptora typu pierwszego dla angiotensyny II, będącego głównym receptorem poprzez który angiotensyna II wywiera swoje działanie, stał się ważnym obiektem badań mających na celu ustalenie jego wpływu na czynność układu sercowo-naczyniowego. Istnieją badania dowodzące zwiększonej ekspresji receptorów dla angiotensyny II w miejscu angioplastyki [167]. Jak wcześniej wspomniano, doniesienia na temat wpływu opisywanego polimorfizmu na określone choroby układu sercowo-naczyniowego w tym zaawansowanie choroby wieńcowej są nieliczne i sprzeczne.

W badanej przez mnie grupie częstość występowania poszczególnych genotypów polimorfizmu *A1166C* wynosiła: *CC*-6%, *AC*-39% oraz *AA*-55% i była podobna do wcześniej opisywanych w populacji europejskiej. Rozkład klasycznych czynników ryzyka choroby wieńcowej poza częstszym występowaniem cukrzycy u homozygot *CC* był niezależny od genotypów polimorfizmu *A1166C* genu receptora typu 1 dla angiotensyny II. Należy jednak zwrócić uwagę na to, że poziomy glikemi na czczo nie różniły się istotnie pomiędzy chorymi z poszczególnymi genotypami.

Iloraz szans wystąpienia podstawowego złożonego punktu końcowego (zgon, zawał serca, TVR) wśród obserwowanych chorych wynosił dla modelu recesywnego (*CC+AC* vs *AA*) $OR=1.03$ (95%CI, 0.42-2.52), natomiast dla modelu dominującego (*CC* vs *AC+AA*) $OR=1.96$ (95%CI, 0.45-8.46). Wyniki te nie były istotne statystycznie (p wynosiło odpowiednio $p=0.9$ i $p=0.4$), jakkolwiek są zgodne z doniesieniami sugerującymi wzrost ryzyka związanego z homozygotycznym wariantem polimorficznym tego genu (*CC*).

W badanej grupie nie stwierdziłem, aby rozkład genotypów różnił się istotnie w grupach z różnie definiowanymi, opisanymi wcześniej, punktami końcowymi. Wyniki te są zgodne z dotychczas uzyskanymi w innych badaniach, gdzie nie stwierdzono wpływu opisywanego polimorfizmu na częstość restenoz ani zdarzeń sercowo-naczyniowych u chorych poddanych planowej angioplastyce wieńcowej [168] [169].

6.5. Polimorfizm *M235T* genu angiotensynogenu (*M235T AGT*)

Polimorfizm *M235T* genu angiotensynogenu wiązany jest z różnymi poziomami angiotensynogenu w osoczu. Zatem większa ilość angiotensynogenu, który jest bezpośrednim prekursorem angiotensyny I, a co za tym idzie angiotensyny II, może teoretycznie mieć wpływ na funkcjonowanie układu sercowo-naczyniowego oraz na miejscową reakcję tętnicy na zabieg angioplastyki wieńcowej. Donoszono o możliwości związku allela *T* ze zwiększonym ryzykiem restenozy po zabiegach interwencyjnych na tętnicach wieńcowych [170]. Wykazano również, że nosiciele allela *T* odnoszą większe korzyści niż homozygoty *MM* ze stosowania chinaprylu po zabiegach PCI – stwierdzono w tej grupie mniejszą częstość nawrotu zwężenia [171].

Częstość występowania poszczególnych genotypów polimorfizmu *M235T* wynosiła: *MM*-66%, *MT*-21% i *TT*-13% i była podobna do obserwowanych w populacjach kaukaskich. Poszczególne allele występowały z częstością: *M*-0.76 i *T*-0.24. Rozkład ten nie jest zgodny z rozkładem Hardy-Weinberga, co może świadczyć o preselekcji chorych i utrudnia

interpretację wyników własnych. Klasyczne czynniki ryzyka rozwoju choroby wieńcowej poza wyższym stężeniem trójglicerydów i częstszym paleniem tytoniu u homozygot *TT* rozkładały się podobnie w poszczególnych grupach genotypów polimorfizmu *M235T* genu angiotensynogenu.

Iloraz szans wystąpienia złożonego punktu końcowego zdefiniowanego jako zgon, zawał serca lub konieczność rewaskularyzacji leczonego naczynia, w badanej grupie pacjentów poddanych angioplastyce wieńcowej wynosił dla modelu *TT+MT* vs *MM* OR=0.93 (95%CI, 0.37-2.40; p=0.9), natomiast dla modelu *TT* vs *MM+MT* OR=1.37 (95%CI, 0.41-4.62; p=0.6). Podobnie, ilorazy szans dla pozostałych badanych złożonych i prostych punktów końcowych nie osiągnęły istotności statystycznej.

Wyniki te nie potwierdzają wyżej opisanych związków polimorfizmu *M235T* genu *AGT* z częstością restenoz oraz nie potwierdzają tezy o ewentualnym powiązaniu tego polimorfizmu z występowaniem incydentów sercowo-naczyniowych wśród pacjentów, u których wykonano planową angioplastykę wieńcową.

6.6. Polimorfizm *C344T* genu syntazy aldosteronu (*C344T CYP11B2*)

Nie jest pewne czy polimorfizm *C344T* genu syntazy aldosteronu ma znaczenie czynnościowe, szczególnie w patogenezie chorób układu sercowo-naczyniowego. Wyniki dotyczące związku tego polimorfizmu z poziomem aldosteronu w osoczu są rozbieżne – donoszono zarówno o większej częstości występowania allela *T* u osób z podwyższonym poziomem aldosteronu [172], jak i podobnym związkiem allela *C* [173]. Ponieważ markerem aktywności aldosteronu jest stosunek poziomu aldosteronu do reniny (*ARR - aldosterone-to-renin ratio*), badacze częściej odnoszą się do tego parametru. Istnieją doniesienia o wyższym *ARR* u nosicieli allela *T* [93].

Wyniki dotychczasowych badań nad związkiem wariantów polimorficznych *C344T CYP11B2* z częstością incydentów sercowo-naczyniowych są nieliczne i rozbieżne. W populacji japońskiej stwierdzono związek nosicielstwa allela *T* ze zwiększoną częstością incydentów sercowo-naczyniowych [174].

W badanej grupie stwierdzono następujący rozkład częstości genotypów polimorfizmu *C344T CYP11B2*: *TT*-23%, *TC*-54% i *CC*-23%. Poszczególne allele występowały z częstością: *T*-0.504 i *C*-0.496. Rozkład ten jest zgodny z rozkładem Hardy-Weinberga, a częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów były podobne do wcześniej opisywanych w społecznościach kaukaskich. Z pośród klasycznych czynników

ryzyka choroby wieńcowej istotnie wyższy poziom cholesterolu całkowitego i frakcji LDL obserwowalem w badanej grupie u nosicieli allele *C*. Rozkład innych czynników ryzyka był niezależny od genotypów polimorfizmu *C344T* genu syntazy aldosteronu.

W obserwowanej przeze mnie grupie, iloraz szans wystąpienia złożonego punktu końcowego, który obejmował zgon, zawał serca lub konieczność rewaskularyzacji leczonego naczynia, wynosił dla modelu *TT+TC* vs *CC* OR=0.85 (95%CI, 0.30-2.38; p=0.75), a dla modelu *TT* vs *CC+TC* OR=0.63 (95%CI, 0.22-1.82; p=0.39). W obu przypadkach wyniki nie były istotne statystycznie, co nie zmieniło się po korekcji o poziom cholesterolu całkowitego.

Również analiza ilorazów szans dla pozostałych badanych złożonych i prostych punktów końcowych nie przyniosła istotnych statystycznie wyników. W świetle powyższych rezultatów należy przyjąć, że polimorfizm *C344T CYP11B2* nie ma związku z występowaniem incydentów wieńcowych u chorych po zabiegach planowej angioplastyki wieńcowej. Wydaje się jedynie, że nosiciele allele *C* powyższego polimorfizmu, mogą mieć wyższe poziomy cholesterolu całkowitego i frakcji LDL.

6.7. Interakcje między wariantami polimorficznymi układu renina-angiotensyna-aldosteron

W niniejszej pracy zrezygnowałem z przeprowadzania analizy interakcji między poszczególnymi polimorfizmami badanych genów. Istnieje duże ryzyko, że rozpatrywanie tych zależności zaowocowałoby zupełnie przypadkowymi wynikami, z powodu małej liczebności badanej grupy. Analizy takie wymagają zbadania większej grupy chorych i najpewniej dłuższego okresu obserwacji.

6.8. Polimorfizm *Leu33/Pro* genu glikoproteiny płytkowej IIIa (*PLA1/PLA2 GPIIIa*)

Płytki krwi jako kluczowe ogniwo w patogenezie zmian miażdżycowych, incydentów wieńcowych i restenozy są ważnym przedmiotem badań nad tymi zjawiskami chorobowymi. Istnieje możliwość, że badany przeze mnie polimorfizm genu glikoproteiny płytkowej IIIa może skutkować zmianą w funkcji białka receptorowego IIb/IIIa, co prowadzi do zwiększonej agregacji i aktywacji płytek w miejscu uszkodzenia naczynia wieńcowego [175]. Rezultatem tych zmian jest zwiększona odpowiedź zakrzepowa oraz zwiększone wydzielanie czynników zaangażowanych w progresję miażdżycy [176].

W roku 1996 Weiss i wsp. donosili o związku między ostrą zakrzepicą w naczyniach wieńcowych a nosicielstwem wariantu polimorficznego *PLA2* genu glikoproteiny płytkowej IIb/IIIa [162]. Stwierdzono także związek tego polimorfizmu z podostrą zakrzepicą w stencie oraz z rozwojem restenozy w stencie [177].

W badanej grupie 142 chorych stwierdzono rozkład częstości genotypów polimorfizmu *PLA1/PLA2 GPIIIa*, który pozostawał w zgodzie z równowagą Hardy-Weinberga i był podobny do wcześniej opisywanych w populacji europejskiej. Poszczególne allele występowały z częstością: *PLA1*-0.81, *PLA2*-0.19, a częstości poszczególnych genotypów kształtowały się następująco: *PLA2A2*-4%, *PLA1A2*-27% i *PLA1A1*-69%. Rozkład klasycznych czynników ryzyka choroby wieńcowej był wśród obserwowanych chorych niezależny od genotypów polimorfizmu *PLA1/PLA2 GPIIIa*.

Wśród badanych chorych nie stwierdziłem, aby rozkład genotypów różnił się istotnie w grupach z różnie definiowanymi punktami końcowymi. Iloraz szans wystąpienia podstawowego złożonego punktu końcowego (zgon z przyczyn sercowych, zawał serca, TVR) dla modelu *PLA2A2+PLA1A2* vs *PLA1A1* wynosił OR=1.42 (95%CI, 0.56-3.58; p=0.45).

W przeprowadzonych analizach obserwowałem jedynie tendencję do częstszego występowania zgonów z przyczyn sercowych wśród nosicieli allele *A2*. Iloraz szans wynosił OR=4.05 (95%CI, 0.91-18.0; p=0.06). Tendencja ta pozostaje w zgodzie z niektórymi przytaczanymi przez światową literaturę wynikami, które wiążą allel *A2* z częstszym występowaniem incydentów sercowo-naczyniowych wśród chorych z chorobą wieńcową oraz występowaniem restenozy u chorych po zabiegach angioplastyki wieńcowej [178]. Przeprowadzone w naszym ośrodku badania sugerują związek genotypu *PLA1A1* z większym zaawansowaniem choroby wieńcowej wśród chorych z północnego regionu Polski [118]. Należy jednak zwrócić uwagę na fakt, że większość badań nie potwierdza wpływu opisywanego polimorfizmu na częstość incydentów wieńcowych u chorych z CAD.

6.9. Polimorfizm *G460W* genu alfa adducyny (*G460W ADD1*)

Adducyna, co wcześniej opisałem, jest zaangażowana w transport jonowy, oraz przekazywanie sygnału w komórce. Polimorfizm *G460W* genu alfa adducyny może być odpowiedzialny, jak wspomniano, za nadmierną wrażliwość na podaż sodu u chorych z nadciśnieniem tętniczym. W kilku badaniach stwierdzono związek polimorfizmu *G460W* z wysokością ciśnienia tętniczego oraz występowaniem nadciśnienia tętniczego [179] w tym także jego sodowrażliwą formą [180]. W niedawno opublikowanym badaniu stwierdzono

również istotny związek polimorfizmu *G460W* z zaawansowaniem miażdżycy i występowaniem zawału serca. Allel *Trp* (*W*) związany jest także z występowaniem miażdżycy oraz choroby wieńcowej u chorych z nadciśnieniem tętniczym [181].

W badanej grupie stwierdzono następujący rozkład częstości genotypów polimorfizmu *G460W* genu alfa adducyny: *GG*-70.4%, *GW*-26.8% i *WW*-2.8%. Podobne wyniki uzyskano w innych populacjach europejskich. Poszczególne allele występowały z częstością: *G*-0.84 i *W*-0.16. Rozkład ten był zgodny z rozkładem Hardy-Weinberga. Rozkład podstawowych czynników ryzyka w badanej grupie był niezależny od genotypów polimorfizmu *G460W* *ADD1*.

Iloraz szans wystąpienia złożonego punktu końcowego (zgon, zawał serca, konieczność rewaskularyzacji leczonego naczynia) w badanej grupie, wynosił dla modelu *GG* vs *GW+WW* OR=1.02 (95%CI, 0.39-2.69). Wynik ten nie osiągnął istotności statystycznej ($p=0.96$). Również analiza ilorazów szans dla pozostałych badanych złożonych i prostych punktów końcowych nie wykazała istotnych statystycznie wyników.

Rezultaty moich obserwacji nie potwierdzają hipotezy o wpływie polimorfizmu *G460W* genu alfa adducyny na rokowanie chorych po zabiegu PTCA oraz związku tego polimorfizmu z występowaniem nadciśnienia tętniczego.

6.10. Polimorfizm *C825T* genu podjednostki beta-3 białka G (*C825T* *GNB-3*)

Polimorfizm *C825T* genu podjednostki beta-3 białka G, jako białka zaangażowanego w przekazywanie sygnałów komórkowych i odgrywającego ogromną rolę w organizmie został zidentyfikowany w wielu badaniach jako możliwy czynnik ryzyka niektórych schorzeń mających związek z funkcjonowaniem układu krążenia.

Wśród badanych chorych stwierdziłem następujący rozkład częstości genotypów polimorfizmu *C825T* *GNB-3*: *TT*-12%, *TC*-38.7% i *CC*-49.3%. Był on podobny do uzyskiwanych w populacjach europejskich. Poszczególne allele występowały z częstością: *T*-0.31 i *C*-0.69. Rozkład ten w badanej grupie nie odbiegał od rozkładu Hardy-Weinberga.

Allel *T* opisywanego polimorfizmu związany był w niektórych doniesieniach z jednoczesnym występowaniem klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego (otyłości, nadciśnienia tętniczego, hiperlipidemii i cukrzycy). Osoby homozygotyczne pod względem allele *T* częściej niż nosiciele allele *C* chorowali na jedną z wyżej wymienionych chorób [182]. Stwierdzono także możliwy związek nosicielstwa allele *T* z podwyższonym poziomem cholesterolu [183] a także insulinoopornością [184]. W uzyskanych przeze mnie

wynikach potwierdziłem ten związek. Wśród nosicieli allele *T* obserwowałem istotnie wyższy poziom cholesterolu całkowitego w badanej grupie. Poziom cholesterolu całkowitego był najwyższy u homozygot *TT*. Pozostałe czynniki ryzyka rozkładały się podobnie w poszczególnych grupach genotypów polimorfizmu *C825T GNB-3*.

Rozwój nadciśnienia tętniczego po części może być przypisany zaburzeniom w funkcjonowaniu antyporterów Na^+/H^+ (NHE - *sodium/proton exchanger*), których aktywność, jak przypuszcza się, regulowana jest przez białko G [185]. Zwiększona aktywność NHE, związana z nosicielstwem allele *T*, prowadzi poprzez większą wymianę sodowo-protonową w cewce proksymalnej nefronu, do zwiększenia natremii oraz objętości krwi krążącej. Ponadto aktywacja NHE w komórkach mięśniówki gładkiej może zwiększać jej tonus, prowadzić do przerostu błony środkowej naczyń a w efekcie do zwiększenia oporu naczyniowego.

Opisywany przez innych badaczy związek allele *T* z występowaniem nadciśnienia tętniczego nie znalazł potwierdzenia w obserwowanej przeze mnie grupie. Nie obserwowałem też istotnych różnic w rozkładzie pozostałych podstawowych czynników ryzyka w badanej grupie.

W wykonanych przeze mnie analizach obserwowałem jedynie tendencję do częstszego występowania najszerszego z badanych złożonego punktu końcowego (obejmującego: zgon, zawał serca, rewaskularyzację lezonego naczynia, kolejną, nieplanowaną angioplastykę jakiegokolwiek naczynia wieńcowego, epizod niestabilnej choroby wieńcowej, CABG) wśród nosicieli allele *T*. Iloraz szans wynosił dla modelu *TT+TC* vs *CC* $\text{OR}=1.84$ (95%CI, 0.91-3.71; $p=0.08$), a po korekcji o poziom cholesterolu całkowitego wynosił $\text{OR}=1.97$ (95%CI, 0.97-4.01) przy poziomie istotności statystycznej $p=0.06$.

Iloraz szans wystąpienia złożonego punktu końcowego zdefiniowanego jako zgon, zawał serca lub konieczność rewaskularyzacji lezonego naczynia (punkt końcowy nr 1), w badanej grupie pacjentów poddanych angioplastyce wieńcowej wynosił dla modelu *TT+TC* vs *CC* $\text{OR}=1.5$ (95%CI, 0.61-3.67; $p=0.37$), a dla modelu *TT* vs *CC+TC* wynosił $\text{OR}=0.62$ (95%CI, 0.13-2.97; $p=0.55$). Wyniki te nie osiągnęły istotności statystycznej również po korekcji o poziom cholesterolu całkowitego. Ilorazy szans dla pozostałych badanych złożonych i prostych punktów końcowych także nie osiągnęły istotności statystycznej.

Wyniki uzyskane w analizie badanej przeze mnie grupy potwierdzają rezultaty uzyskane w innych badaniach tylko w zakresie związku nosicielstwa allele *T* polimorfizmu *C825T GNB-3* z podwyższonym poziomem cholesterolu. Wydaje się jednak, że opisywany

związek allelela *T* z ryzykiem wystąpienia przynajmniej jednego z prostych punktów końcowych nie wynika z podwyższonego poziomu cholesterolu całkowitego, ponieważ iloraz szans zwiększył się po korekcji o poziom TC.

6.11. Polimorfizm T2238C genu przedsionkowego czynnika natriuretycznego (*ScaI ANP*)

Antymitogenne właściwości przedsionkowego czynnika natriuretycznego mogą sugerować jego istotną rolę w patogenezie tworzenia się blaszki miażdżycowej oraz reakcji tętnicy na zabieg angioplastyki i w efekcie mieć związek z częstością występowania niekorzystnych zjawisk po takim zabiegu. Opisywane efekty przeciwnadciśnieniowe mające wpływ na przerost mięśnia sercowego, który jest uznanym czynnikiem rokowniczym wśród chorych z CAD, mogą skutkować zmniejszeniem lub zwiększeniem ilości nagłych zgonów sercowych – nie tylko u chorych po zabiegach PTCA, szczególnie gdy się weźmie pod uwagę, że ANP ma wpływ na zmniejszenie uwalniania katecholamin [186].

W badanej grupie stwierdzono następujący rozkład częstości genotypów polimorfizmu *ScaI A2/A1 ANP*: *A2A2*-72.5% (n=103), *A1A2*-23.2% (n=33) i *A1A1*-4.3% (n=6). Poszczególne allele występowały z częstością: *A2*-0.84 i *A1*-0.16. Rozkład ten jest zgodny z rozkładem Hardy-Weinberga, a częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów były podobne do wcześniej opisywanych w populacji europejskiej. W badanej grupie obserwowano częstsze występowanie cukrzycy wśród chorych z genotypem *A1A1*. W tej grupie także częściej obserwowano obecność nadciśnienia, jednak wynik ten nie osiągnął istotności statystycznej.

Iloraz szans wystąpienia podstawowego złożonego punktu końcowego (zgon, zawał serca, konieczność rewaskularyzacji leczonego naczynia) w badanej grupie, wynosił OR=0.71 (95%CI, 0.27-1.84) dla modelu *A2A2* vs *A1A2+A1A1*. Wynik ten nie osiągnął istotności statystycznej (p=0.48). Ilorazy szans dla pozostałych badanych złożonych i prostych punktów końcowych także nie osiągnęły istotności statystycznej. W badanej grupie obserwowałem jedynie tendencję do rzadszego występowania najszerszego złożonego punktu końcowego (wystąpienie przynajmniej jednego z następujących incydentów: zgon, zawał serca, rewaskularyzacja leczonego naczynia, następna, nieplanowana angioplastyka jakiegokolwiek naczynia wieńcowego, epizod niestabilnej choroby wieńcowej i CABG) wśród chorych będących homozygotami *A2A2*. Iloraz szans dla modelu *A2A2* vs *A1A2+A1A1* wynosił OR=0.5 (95%CI, 0.23-1.05), przy poziomie istotności p=0.07.

W publikacji pochodzącej z naszego ośrodka wykazano związek allele *A2* z większą rozległością miażdżycy tętnic wieńcowych i przebytych zawałami mięśnia sercowego w wywiadzie [154]. Różnicę między tym badaniem i moimi wynikami można wytłumaczyć w ten sposób, że incydenty analizowane w mojej pracy były stwierdzane w prospektywnym badaniu obserwacyjnym, natomiast poprzednia publikacja miała charakter retrospektywny, zatem wcześniej ujawnione ryzyko związane z allelem *A2*, mogło być wynikiem negatywnej selekcji badanej populacji, tzn. chorzy wyższego ryzyka (nosiciele allele *A1*) mogli być wyeliminowani z poprzedniego badania z powodu przedwczesnego zgonu, co uniemożliwiło włączenie ich do analizy.

6.12. Podsumowanie

W kardiologii, występowanie wielu jednostek chorobowych nie zależy tylko i wyłącznie od czynników genetycznych. Więcej, czynniki te, jak okazało się w wielkich badaniach populacyjnych oraz niniejszej pracy pełnią niewielką rolę w patogenezie chociażby choroby wieńcowej i ich powikłań. Ogólnie przyjmuje się, że choroby te ujawniają się na skutek współdziałania czynników genetycznych i środowiskowych ze znaczną przewagą oddziaływania tych drugich, co potwierdziłem częściowo w mojej analizie.

Metodyka mojej pracy opierała się na przeprowadzeniu analiz w wyselekcjonowanej grupie chorych. Badałem jedynie niewielką ilość możliwych polimorfizmów mogących mieć związek z funkcjonowaniem układu sercowo-naczyniowego u chorych po zabiegach planowej angioplastyki wieńcowej. Obecnie w poszukiwaniu korelacji między zmiennością genetyczną, a występowaniem określonych jednostek chorobowych dąży się do przeprowadzania znacznie bardziej zaawansowanych i skomplikowanych analiz (*genome wide screening*). Badania te analizują cały genom w poszukiwaniu wariantów genetycznych licznych genów kandydatów.

Badania ewentualnych związków wariantów polimorficznych genów z określoną chorobą należy interpretować ze znaczną ostrożnością szczególnie w przypadku, kiedy nie znamy mechanizmów biologicznych mogących odpowiadać za taki związek przyczynowo-skutkowy. Znane są polimorfizmy pojedynczych nukleotydów, które znajdują się w tzw. niezrównoważonym sprzężeniu (*linkage disequilibrium*). Mogą mieć one istotne znaczenie funkcjonalne, jednak istnieje możliwość, że stanowią jedynie marker innego, dotychczas nie poznanego polimorfizmu obecnego blisko locus przyczynowo związanego z danym schorzeniem [187].

Odkrycie ewentualnych związków określonych polimorfizmów z chorobami układu sercowo-naczyniowego, skutkować ma nie tylko, identyfikacją osób zagrożonych, ich

intensywniejszej kontroli i farmakoterapii, ale może także zaowocować popierwsze: odkryciem nowych punktów dla działań terapeutycznych, a po drugie: stworzeniem nowych leków. Dalsze sukcesy badaczy na pewno będą się wiązać z rozwinięciem technik terapii genowej. Techniki te, jakże odległe i graniczące niemal z fantastyką jeszcze kilkanaście lat temu, stają się coraz bliższe urzeczywistnienia i wprowadzenia być może już w ciągu niedługiego czasu do praktyki klinicznej. Uważam, że było by to osiągnięcie dorównujące pierwotnemu sukcesowi Watsona i Cricka i stanowiłoby ukoronowanie wysiłków tysięcy badaczy, lekarzy i biologów molekularnych. Może mieć to szczególne znaczenie w schorzeniach układu sercowo-naczyniowego, które są nadal i będą w najbliższej przyszłości przyczyną przedwczesnego inwalidztwa i zgonów.

VII. PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Na podstawie analiz przeprowadzonych w grupie 142 pacjentów ze stabilną chorobą wieńcową, obserwowanych w ciągu 44±13 miesięcy po zabiegu planowej interwencji wieńcowej (PTCA lub implantacja stentu) jednego naczynia wykazano istotny statystycznie związek wystąpienia zgonu z nosicielstwem allele I polimorfizmu *insercyjno/delecyjnego* genu enzymu konwertującego angiotensynę I.

Nie wykazano istotnego związku między występowaniem incydentów wieńcowych, a wariantami polimorficznymi:

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

Ponadto w badanej grupie stwierdzono związek:

1. genotypu *CC* polimorfizmu *A1166C AT1R* genu receptora typu pierwszego dla angiotensyny II z występowaniem cukrzycy
2. genotypu *A1A1* polimorfizmu *ScaI A2/A1 ANP* genu przedsionkowego czynnika natriuretycznego z występowaniem cukrzycy
3. allele *T* polimorfizmu *C825T GNB-3* genu podjednostki beta-3 białka G z wyższym poziomem cholesterolu całkowitego
4. allele *C* polimorfizmu *C344T CYP11B2* genu syntazy aldosteronu z wyższym poziomem cholesterolu całkowitego i cholesterolu LDL
5. genotypu *TT* polimorfizmu *M235T AGT* genu angiotensynogenu z wyższym poziomem trójglicerydów
6. niższej frakcji wyrzutowej lewej komory serca, przebytego zawału serca oraz starszego wieku z ryzykiem wystąpienia zgonu z przyczyn sercowych
7. obecności nadciśnienia tętniczego z ryzykiem wystąpienia złożonego punktu końcowego definiowanego jako: zgon z przyczyn sercowych, zawał serca lub rewaskularyzacja leczonego naczynia

8. obecności nadciśnienia tętniczego z ryzykiem wystąpienia złożonego punktu końcowego definiowanego jako: zgon z przyczyn sercowych, zawał serca lub kolejna, nieplanowana angioplastyka jakiegokolwiek naczynia wieńcowego
9. obecności nadciśnienia tętniczego z ryzykiem wystąpienia złożonego punktu końcowego definiowanego jako jakikolwiek incydent wieńcowy (zgon z przyczyn sercowych, zawał serca, niestabilna choroba wieńcowa, rewaskularyzacja leczonego naczynia, angioplastyka jakiegokolwiek naczynia wieńcowego, CABG)
10. wyższego poziomu cholesterolu całkowitego i cholesterolu LDL z wystąpieniem epizodu niestabilnej choroby wieńcowej

W przeprowadzonej przeze mnie pracy tylko częściowo potwierdziłem wstępną hipotezę badawczą, że warianty polimorficzne wybranych do analizy ośmiu genów wpływają na częstość incydentów wieńcowych u chorych po planowym zabiegu angioplastyki wieńcowej w długiej obserwacji.

Wnioski z wykonanych analiz mogą sugerować związek niektórych polimorfizmów badanych genów z występowaniem nadciśnienia tętniczego i gorszym profilem lipidowym w badanej grupie chorych.

Potwierdziłem wpływ tradycyjnych czynników ryzyka na rokowanie pacjentów w obserwowanej grupie chorych.

VIII. STRESZCZENIE

W Polsce choroba niedokrwienna serca w dalszym ciągu, od wielu lat znajduje się na pierwszym miejscu wśród przyczyn zgonów. Mimo, iż obserwuje się stopniowy spadek umieralności z powodu choroby wieńcowej, pozostaje ona ogromnym problemem społecznym i ekonomicznym.

Poza stosowaniem farmakoterapii jednym ze sposobów leczenia choroby wieńcowej jest przezskórna interwencja wieńcowa (PCI) tj. balonowa angioplastyka tętnic wieńcowych (PTCA) lub implantacja stentów wieńcowych. Swoją wysoką pozycję w terapii choroby wieńcowej zawdzięcza ona niskiej inwazyjności, niewielkiemu odsetkowi powikłań okołoproceduralnych oraz niskiej śmiertelności. Metoda ta ma jednak również swoje ograniczenia, z których bardzo ważnym jest restenoza, czyli nawrót zwężenia naczynia wieńcowego w poszerzonym miejscu. Podejrzewa się, że w patogenezie choroby wieńcowej i restenozy mogą brać udział czynniki genetyczne. Ich poznanie może mieć implikacje kliniczne, z których najważniejszymi są: identyfikacja zagrożonych chorych i odpowiednie działania terapeutyczne.

Celem przeprowadzonych badań wśród chorych ze stabilną chorobą wieńcową poddanych zabiegom PCI tętnic wieńcowych 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. *M235T* genu angiotensynogenu (*M235T AGT*),
4. *C344T* genu syntazy aldosteronu (*C344T CYP11B2*),
5. *Leu33/Pro* genu glikoproteiny płytkowej IIIa (*PLA1/PLA2 GPIIIa*),
6. *G460W* genu alfa adducyny (*G460W ADD1*),
7. *C825T* genu podjednostki beta-3 białka G (*C825T GNB-3*),
8. *T2238C* genu przedsionkowego czynnika natriuretycznego (*ScaI ANP*),

z ryzykiem dużych incydentów wieńcowych (MACE) takich jak: zgon, zawał serca, kolejna rewaskularyzacja leczonego naczynia, kolejna nieplanowana angioplastyka jakiegokolwiek naczynia wieńcowego, niestabilna choroba wieńcowa oraz CABG w czasie 36 miesięcy po zabiegu PCI.

Badania przeprowadzono w grupie 142 pacjentów z rozpoznaną chorobą wieńcową, u których angiograficznie stwierdzono wskazania do wykonania rewaskularyzacji tylko jednego naczynia wieńcowego. Chorzy ci, w wieku od 43 do 86 lat (średni wiek 66 ± 9 lat), byli

hospitalizowani w I Katedrze i Klinice Kardiologii AM w Gdańsku w roku 2003, w celu wykonania pierwszej, planowej angioplastyki tętnic wieńcowych w Pracowni Kardioangiologii Inwazyjnej AM w Gdańsku.

Dane kliniczne dotyczące dotychczasowego przebiegu chorób układu sercowo-naczyniowego oraz czynników ryzyka choroby wieńcowej zbierano w trakcie badania podmiotowego. Dane dotyczące incydentów sercowo-naczyniowych, które wystąpiły w okresie obserwacji uzyskiwano w trakcie wizyty kontrolnej lub wywiadu telefonicznego przeprowadzonego co najmniej 36 miesięcy po pierwotnej angioplastyce tętnic wieńcowych.

Przezskórną angioplastykę tętnic wieńcowych wykonywano według opisanej wcześniej przez Gruentziga metody [158] przy pomocy aparatów Integris 300HM (PHILIPS) lub Axiom Artis VC 20 (SIEMENS) w Pracowni Kardioangiologii Inwazyjnej AMG. W trakcie zabiegu wykorzystywano cewniki prowadzące 6F lub 7F oraz cewniki balonowe dostępne na rynku. Implantacja stentu uzależniona była od decyzji wykonującego procedurę operatora. Do badania zakwalifikowano tylko chorych, u których zabieg został oceniony jako skuteczny.

Badania molekularne były wykonywane w Katedrze i Zakładzie Biologii i Genetyki Akademii Medycznej w Gdańsku przy użyciu metod biologii molekularnej.

Na podstawie analiz przeprowadzonych w grupie 142 pacjentów ze stabilną chorobą wieńcową, obserwowanych w ciągu 44 miesięcy po zabiegu planowej angioplastyki wieńcowej jednego naczynia wykazano istotny statystycznie związek wystąpienia zgonu z nosicielstwem allele I polimorfizmu *insercyjno/delecyjnego* genu enzymu konwertującego angiotensynę I. Iloraz szans dla modelu *DD+ID* vs *II* wynosił $OR=0.16$ (95%CI, 0.03-0.74; $p<0.02$).

Nie wykazano istotnego związku między występowaniem incydentów wieńcowych w długiej obserwacji, a wariantami polimorficznymi pozostałych badanych genów.

W badanej grupie stwierdzono związek pomiędzy:

1. genotypem *CC* polimorfizmu *A1166C AT1R* genu receptora typu pierwszego dla angiotensyny II z występowaniem cukrzycy. Odsetek występowania cukrzycy w poszczególnych grupach genotypów wynosił: *AA*-26%, *AC*-26%, *CC*-67% ($p<0.05$).
2. genotypem *A1A1* polimorfizmu *ScaI A2/A1 ANP* genu przedsiorkowego czynnika natriuretycznego z występowaniem cukrzycy. Odsetek występowania cukrzycy w poszczególnych grupach genotypów wynosił: *A2A2*-32%, *A1A2*-12%, *A1A1*-50% ($p<0.05$).

3. allelem *T* polimorfizmu *C825T GNB-3* genu podjednostki beta-3 białka G z wyższym poziomem cholesterolu całkowitego. Poziom cholesterolu całkowitego w poszczególnych grupach genotypów wynosił: *CC*-180±34 mg%, *TC*-183±32 mg%, *TT*-202±34 mg% ($p<0.05$).
4. allelem *C* polimorfizmu *C344T CYP11B2* genu syntazy aldosteronu z wyższym poziomem cholesterolu całkowitego i cholesterolu LDL. Poziom cholesterolu całkowitego w poszczególnych grupach genotypów wynosił: *CC*-184±34 mg%, *TC*-189±36 mg%, *TT*-170±27 mg% ($p<0.05$). Poziom trójglicerydów w poszczególnych grupach genotypów wynosił: *CC*-114±34 mg%, *TC*-118±36 mg%, *TT*-87±25 mg% ($p<0.05$).
5. genotypem *TT* polimorfizmu *M235T AGT* genu angiotensynogenu z wyższym poziomem trójglicerydów. Poziom trójglicerydów w poszczególnych grupach genotypów wynosił: *MM*-140±63 mg%, *MT*-135±57 mg%, *TT*-208±124 mg% ($p<0.05$).

W badanej grupie potwierdzono wpływ tradycyjnych czynników ryzyka takich jak, poziom cholesterolu, obecność nadciśnienia tętniczego, niższej frakcji wyrzutowej lewej komory serca, przebycia zawału serca oraz starszego wieku na rokowanie pacjentów w obserwowanej grupie chorych.

Podsumowując, wydaje się, że wybrane polimorfizmy badanych genów nie mają istotnego wpływu na występowanie incydentów wieńcowych po zabiegach planowej angioplastyki wieńcowej. Polimorfizmy te mogą mieć związek z występowaniem cukrzycy i gorszym profilem lipidowym w niektórych grupach chorych. Nadciśnienie tętnicze wydaje się silnym czynnikiem ryzyka związanym z występowaniem incydentów wieńcowych u pacjentów po niechirurgicznej rewaskularyzacji tętnic wieńcowych.

VIII. SUMMARY

Coronary heart disease (CAD) has been the main cause of deaths in Poland since many years. Despite of declining mortality attributed to CAD, it still constitutes a major social and economic problem.

Beside pharmacological treatment of CAD the modern medicine has other methods of therapy. One of them is percutaneous coronary intervention (PCI) ie. Percutaneous transluminal coronary baloon angioplasty (PTCA) or coronary stent implantation. Its high position in therapy of CAD can be put down to a relatively low invasiveness, low incidence of periprocedural complications and mortality. But PCI has also its limitations. Restenosis is one, but very important of them. Genetic factors may play important role in the pathogenesis of coronary artery disease and restenosis. The learning of these factors can have clinical implications of which the most important are: the identification of subjects at risk and adequate therapy.

The goal of this analysis was to determine possible associations between:

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

and the risk of major adverse coronary events (death, acute myocardial infarction, target vessel revascularization, repeat revascularization of any coronary artery, unstable angina, CABG) during 36-month follow-up of patients who have undergone successful elective coronary angioplasty.

I investigated 142 subjects admitted to the First Department of Cardiology of Medical University of Gdansk in 2003 with diagnosed CAD who had indications to elective angioplasty of only one coronary artery. The subjects were aged 43 to 86 years (mean age was 66±9 yrs). The study was restricted to those having first coronary angioplasty.

Clinical data and previous history of cardiovascular diseases and risk factors were collected on admission to the hospital. The occurrence of major adverse coronary events

during the follow-up period was determined during office visits or rarely by telephone triage at least 36 months after the procedure.

The PTCA procedure was performed according to previously described by Gruentzig method. The Integris 300HM (PHILIPS) or Axiom Artis VC 20 (SIEMENS) equipment as well as standard 6F or 7F guiding catheters and balloon catheters were used. The implantation of the stent were left to the discretion of the operator.

Molecular studies were performed at the Biology and Genetics Department of Medical University of Gdansk.

During 44 months follow-up period I have found statistically significant association between the *I* allele of *insertion/deletion* polymorphism of angiotensin converting enzyme gene. The odds ratio in *DD+ID* vs *II* was OR=0.16 (95%CI, 0.03-0.74; $p<0.02$).

I have not found any significant association between major adverse coronary events rate during the follow-up period and other analysed polymorphisms.

I have found significant associations:

1. *CC* genotype of *A1166C AT1R* polymorphism was related to the occurrence of diabetes. The percentage of diabetes was as follows: in the *AA* homozygotes-26%, in *AC* heterozygotes-26% and in *AA* homozygotes-67% ($p<0.05$).
2. *A1A1* genotype of *Scal A2/A1 ANP* polymorphism was related to the occurrence of diabetes. The percentage of diabetes was as follows: in the *A2A2* homozygotes-32%, in *A1A2* heterozygotes-12% and in *A1A1* homozygotes-50% ($p<0.05$).
3. *T* allele of *C825T GNB-3* polymorphism was related to the higher levels of total cholesterol. The level of TC was as follows: in the *CC* homozygotes-180±34 mg%, in *TC* heterozygotes-183±32 mg%, in *TT* homozygotes-202±34 mg% ($p<0.05$).
4. *C* allele of *C344T CYP11B2* polymorphism was related to the higher levels of total cholesterol and LDL cholesterol. The level of TC was as follows: in the *CC* homozygotes-184±34 mg%, in *TC* heterozygotes-189±36 mg%, in *TT* homozygotes-170±27 mg% ($p<0.05$). The level of LDL was as follows: in the *CC* homozygotes-114±34 mg%, in *TC* heterozygotes-118±36 mg%, in *TT* homozygotes-87±25 mg% ($p<0.05$).
5. *TT* genotype of *M235T AGT* polymorphism was related to the higher levels of triglycerides. The level of TG was as follows: in the *MM* homozygotes-140±63 mg%, in *MT* heterozygotes-135±57 mg%, in *TT* homozygotes-208±124 mg% ($p<0.05$).

In this study I confirmed that the major (traditional) risk factors (total cholesterol level, hypertension, lower left ventricular ejection fraction, history of myocardial infarction and older age) are the main factors that modify the course of CAD in observed patients in whom the elective PTCA has been performed.

It appears that the analyzed gene polymorphisms have no influence on the prognosis of MACE occurrence in patients after percutaneous coronary interventions. These polymorphisms can be however associated with the prevalence of diabetes and with worse lipid profile in specific subgroups of patients. Hypertension seems to be a potent risk factor associated with MACE rate in patients after percutaneous coronary interventions.

IX. PIŚMIENNICTWO

- [1] Braunwald's Heart Disease: a textbook of cardiovascular medicine / [edited by] Douglas P. Zipes [et al.]. 7th ed. Elsevier Saunders 2005 p. 1122
- [2] Kardiologia, red. T. Mandecki – Warszawa 2000 p. 221
- [3] Braunwald's Heart Disease: a textbook of cardiovascular medicine / [edited by] Douglas P. Zipes [et al.]. 7th ed. Elsevier Saunders 2005 p. 1281
- [4] Rywik S., Broda G., Piotrowski W. i wsp. Epidemiologia chorób układu krążenia-Program Pol-MONICA. Kard Pol T XLIV, sup II:II-7.
- [5] European cardiovascular disease statistics 2008 – European Heart Network 2008
- [6] Rocznik statystyczny 2004 – Główny Urząd Statystyczny 2004
- [7] Eurostat – Yearbook 2004 p. 69
- [8] Heart Disease and Stroke Statistics — 2005 Update, American Heart Association
- [9] Heart Disease and Stroke Statistics — 2009 Update, American Heart Association
- [10] Kardiologia red. T. Mandecki – Warszawa 2000 p. 224-227
- [11] Braunwald's Heart Disease: a textbook of cardiovascular medicine / [edited by] Douglas P. Zipes [et al.]. 7th ed. Elsevier Saunders 2005 p. 1077
- [12] A. Rynkiewicz, Klasyczne (tradycyjne) i nowe czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych 2004-09-21 <http://www.pamietajosercu.pl/mod/archiwum/21.html>
- [13] Braunwald's Heart Disease: a textbook of cardiovascular medicine / [edited by] Douglas P. Zipes [et al.]. 7th ed. Elsevier Saunders 2005 p. 423

- [14] Donald Lloyd-Jones et al. Heart Disease and Stroke Statistics 2009 Update: A Report From the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 2009;119:e21-e181
- [15] Zembala M, Maruszewski B, Woś S. Kardiochirurgia polska –osiągnięcia 2005r. *Kardiologia Pol* 2006;64:445-9
- [16] Braunwald's Heart Disease: a textbook of cardiovascular medicine / [edited by] Douglas P. Zipes [et al.]. 7th ed. Elsevier Saunders 2005 p. 1312-17
- [17] Cameron et al. Five-Year Angiographic Patency of Radial Artery Bypass Grafts. *Circulation* 2004;110[suppl II]:II-23–II-26
- [18] Eagle KA, Guyton RA et al. ACC/AHA 2004 Guideline Update for Coronary Artery Bypass Graft Surgery p.13-19
- [19] Mario Tognia, Percutaneous coronary interventions in Europe 1992–2001. *European Heart Journal* (2004) 25, 1208–1213
- [20] Strona www Krajowego Konsultanta w Dziedzinie Kardiologii. www2.wum.edu.pl/kkk
- [21] Kennedy J.W. Complication associated with cardiac catheterization and angiography. *Cathet. Cardiovasc. Diagn.* 1982; 8: 13
- [22] Topol EJ, Leya F, Pinkerton CA, et al. A comparison of directional atherectomy with coronary angioplasty in patients with coronary artery disease. The CAVEAT Study Group. *N Engl J Med* 1993; 329:221–7
- [23] Standardy postępowania w kardiologii inwazyjnej. Sekcja kardiologii inwazyjnej PTK. <http://www.kardiologiainwazyjna.pl/>

- [24] Srinivas VS, Brooks MM, Detre KM, et al. Contemporary percutaneous coronary intervention versus balloon angioplasty for multivessel coronary disease: A comparison of the National Heart, Lung and Blood Institute Dynamic Registry and the Bypass Angioplasty Revascularization Investigation (BARI) study. *Circulation* 2002; 106:1627-1633
- [25] Braunwald's Heart Disease: a textbook of cardiovascular medicine / [edited by] Douglas P. Zipes [et al.]. 7th ed. Elsevier Saunders 2005 p. 1309
- [26] King SB Ten-year completed follow-up of percutaneous transluminal coronary angioplasty: the early Zurich experience. *J Am Coll Cardiol* 1993;22:353– 60
- [27] David L. Fischman, A Randomized Comparison of Coronary-Stent Placement and Balloon Angioplasty in the Treatment of Coronary Artery Disease The Stent Restenosis Study Investigators. *NEJM* 1994; 331:496-501
- [28] Patrick W. Serruys, A Comparison of Balloon-Expandable-Stent Implantation with Balloon Angioplasty in Patients with Coronary Artery Disease. *N Engl J Med.* 1994; 331:489-495
- [29] Richard F. Davies, Asymptomatic Cardiac Ischemia Pilot (ACIP) Study Two-Year Follow-up. *Circulation.* 1997;95:2037-2043
- [30] Pamela M. Hartigan, John C. Giacomini, Edward D. Folland, Alfred F. Parisi and on behalf of the Veterans Affairs Cooperative Studies Program ACME Investigators. Two- to three-year follow-up of patients with single-vessel coronary artery disease randomized to PTCA or medical therapy (results of a VA cooperative study). *The American Journal of Cardiology* 1998; 82: 1445-1450
- [31] Pitt B, Waters D, Brown WV, et al: Aggressive lipid-lowering therapy compared with angioplasty in stable coronary disease. Atorvastatin versus Revascularization Treatment Investigators. *N Engl J Med* 1999; 341: 70-6
- [32] Henderson RA, Pocock SJ, Clayton TC, et al. Seven-year outcome in the RITA-2 trial: coronary angioplasty versus medical therapy. *J Am Coll Cardiol.* 2003; 42:1161–1170

- [33] <http://www.couragetrial.gov>
- [34] Essentials of Restenosis for the Interventional Cardiologist. HJ Duckers, EG Nabel, PW Serruys. Humana Press 2007
- [35] Our Preoccupation With Coronary Luminology Topol E, Nissen S Circulation. 1995; 92:2333-2342
- [36] Heart Disease: a textbook of cardiovascular medicine / [edited by] Douglas P. Zipes [et al.]. 7th ed. Elsevier Saunders 2005 p.1367-1398
- [37] Morice MC, Serruys PW, Sousa JE et al. A randomized comparison of a sirolimus-eluting stent with a standard stent for coronary revascularization. N Eng J Med 2002; 346:1773-1780
- [38] Sousa J, Costa M, Abizaid A, et al. Sirolimus-eluting stent for the treatment of in-stent restenosis: A quantitative coronary angiography and three-dimensional intravascular ultrasound study. Circulation 2003; 107:24
- [40] Solomon AJ, Gersh BJ, Management of chronic stable angina: medical therapy, percutaneous transluminal coronary angioplasty and coronary artery bypass graft surgery. Lessons from randomized trials. Ann Intern Med 1998; 128:216
- [41] <http://www.escardio.org/congresses/esc2008/congress-reports/Pages/1690-1693-mohr-serruys-hamm-jones.aspx>
- [42] Serruys PW et al. Comparison of coronary artery bypass surgery and stenting for the treatment of multivessel disease. N Engl J Med 2001;344:1117-24
- [43] Rodriguez A, Bernardi V, Navia J, et al. Argentine randomized study: coronary angioplasty with stenting versus coronary artery bypass surgery in patients with multi-vessel disease (ERACI II)— 30-day and one-year follow up results. J Am Coll Cardiol 2001; 37: 51–58

- [44] SoS Investigators. Coronary artery bypass surgery versus percutaneous coronary intervention with stent implantation in patients with multivessel coronary artery disease (the Stent or Surgery trial): a randomized controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 965–70
- [45] Unger et al. Revascularization in multivessel disease: comparison between two-year outcomes of... coronary bypass surgery and stenting. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003; 125: 809-820
- [46] Frederick Feit, Long-Term Clinical Outcome in the Bypass Angioplasty Revascularization Investigation Registry Comparison With the Randomized Trial. *Circulation* 2000;101:2795-2802
- [47] Brener et al. Propensity Analysis of Long-Term Survival After Surgical or Percutaneous Revascularization in Patients with multivessel coronary artery disease and high-risk features. *Circulation* 2004; 109: 2290-2295
- [48] Guidelines for Percutaneous Coronary Interventions The Task Force for Percutaneous Coronary Interventions on the European Society of Cardiology *European Heart Journal* 2005 p.3-4
- [49] Hoffman SN, TenBrook JA, Wolf MP, Pauker SG, Salem DN, Wong JB. A meta-analysis of randomized controlled trials comparing coronary artery bypass graft with percutaneous Transluminal angioplasty: one- to eight-year outcomes. *J Am Coll Cardiol.* 2003; 41(8):1293-304
- [50] Daemen J, Kuck KH, Macaya C, LeGrand V, Vrolix M, Carrie D, Sheiban I, Suttorp MJ, Vranckx P, Rademaker T, Goedhart D, Schuijjer M, Wittebols K, Macours N, Stoll HP, Serruys PW; ARTS-II Investigators, Multivessel coronary revascularization in patients with and without diabetes mellitus: 3-year follow-up of the ARTS-II (Arterial Revascularization Therapies Study-Part II) trial. *J Am Coll Cardiol.* 2008; 52(24):1957-67
- [51] Mark A. Hlatky, Medical Costs and Quality of Life 10 to 12 Years After Randomization to Angioplasty or Bypass Surgery for Multivessel Coronary Artery Disease. *Circulation* 2004;110:1960-1966

- [52] Serruys PW et al. Percutaneous Coronary Intervention versus Coronary-Artery Bypass Grafting for Severe Coronary Artery Disease. *N Engl J Med* 2009;360:961-72
- [53] Malik FS, Lavie CJ, Mehra MR, Milani RV, Re RN. Renin-angiotensin system: genes to bedside. *Am Heart J.* 1997; 134(3):514-26
- [54] Brown NJ, Vaughan DE. Prothrombotic effects of angiotensin. *Adv Intern Med* 2000;45:419-429
- [55] 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
- [56] 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 the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990; 86: 1343–6
- [57] Bauters C, Amouyel P. Association between the ACE genotype and coronary artery disease. *European Heart Journal* 1998;19 (supplement J):J24-J29
- [58] Leatham E, Barley J, Redwood S, Hussein W, Carter N, Jeffery S, Bath PM, Camm A. Angiotensin-1 converting enzyme (ACE) polymorphism in patients presenting with myocardial infarction or unstable angina. *J Hum Hypertens.* 1994; 8(8):635-8.
- [59] N Iwai, N Ohmichi, Y Nakamura, M Kinoshita. DD genotype of the angiotensin-converting enzyme gene is a risk factor for left ventricular hypertrophy. *Circulation* 1994; 90:2622-2628
- [60] Hamon M, Amant C, Bauters C, Lablanche JM, Bertrand M, Amouyel P. ACE polymorphism, a genetic predictor of occlusion after coronary angioplasty. *Am J Cardiol.* 1996; 78(6):679-81

- [61] Strazzullo P, Iacone R, Iacoviello L, Russo O, Barba G, Russo P, D'Orazio A, Barbato A, Cappuccio FP, Farinaro E, Siani A. Genetic variation in the renin-angiotensin system and abdominal adiposity in men: the Olivetti Prospective Heart Study. *Ann Intern Med.* 2003; 138(1):17-23.
- [62] Janusz Jagoda, Leszek Mierzejewski, Marcin Gruchała, Radosław Targoński, Witold Dubaniewicz, Andrzej Kubasik, Andrzej Rynkiewicz. Wpływ wariantów polimorfizmu genu enzymu konwertującego angiotensynę I na przebudowę lewej komory u pacjentów po zawale serca - obserwacja dwuletnia. *Folia Cardiologica* 2000;7(1):13-22
- [63] Krzysztof Narkiewicz, Profil dobowy ciśnienia tętniczego oraz morfologia i funkcja lewej komory serca a wybrane czynniki genetyczne u osób zdrowych. *Rozprawa habilitacyjna.* Gdańsk 1996
- [64] Ferrari M, Mudra H, Grip L, Voudris V, Schachinger V, de Jaegere P, Rieber J, Hausmann D, Rothman M, Koschyk DH, Figulla HR. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism does not influence the restenosis rate after coronary stent implantation. *Cardiology* 2002; 97(1):29-36
- [65] Okumura K, Sone T, Kondo J, et al. Quinapril prevents restenosis after coronary stenting in patients with angiotensin-converting enzyme D allele. *Circ J.* 2002; 66(4):311-6
- [66] Jorgensen E, Kelbaek H, Helqvist S, et al. Predictors of coronary in-stent restenosis: importance of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and treatment with angiotensin-converting enzyme inhibitors. *J Am Coll Cardiol.* 2001; 38(5):1434-9
- [67] E P Feener, J M Northrup, L P Aiello, and G L King. Angiotensin II induces plasminogen activator inhibitor-1 and -2 expression in vascular endothelial and smooth muscle cells. *J Clin Invest.* 1995; 95(3): 1353–1362
- [68] Bonnardeaux A, Davies E, Jeunemaitre X, Fery I, Charru A, Clauser E, Tiret L, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension. *Hypertension* 1994; 24(1):63-9

- [69] Benetos A, Gautier S, Ricard S, Topouchian J, Asmar R, Poirier O, Larosa E, Guize L, Safar M, Soubrier F, Cambien F. Influence of Angiotensin-Converting Enzyme and Angiotensin II Type 1 Receptor Gene Polymorphisms on Aortic Stiffness in Normotensive and Hypertensive Patients. *Circulation* 1996; 94(4):698-703
- [70] Takami S, Katsuya T, Rakugi H, Sato N, Nakata Y, Kamitani A, Miki T, Higaki J, Ogihara T. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism is associated with increase of left ventricular mass but not with hypertension. *Am J Hypertens.* 1998; 11(3 Pt 1):316-21
- [71] Amant C, Hamon M, Bauters C, Richard F, Helbecque N, McFadden EP, Escudero X, Lablanche JM, Amouyel P, Bertrand ME. The angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism is associated with coronary artery vasoconstriction. *J Am Coll Cardiol.* 1997; 29(3):486-90
- [72] Fatini C, Abbate R, Pepe G, Battaglini B, Gensini F, Ruggiano G, Gensini GF, Guazzelli R. Searching for a better assessment of the individual coronary risk profile. The role of angiotensin-converting enzyme, angiotensin II type 1 receptor and angiotensinogen gene polymorphisms. *Eur Heart J.* 2000; 21(8):633-8
- [73] 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(2):71-6
- [74] Anvari A, Turel Z, Schmidt A, Yilmaz N, Mayer G, Huber K, Schuster E, Gottsauner-Wolf M. Angiotensin-converting enzyme and angiotensin II receptor 1 polymorphism in coronary disease and malignant ventricular arrhythmias. *Cardiovasc Res.* 1999;43(4):879-83
- [75] Kurland L, Melhus H, Karlsson J, Kahan T, Malmqvist K, Ohman P, Nystrom F, Hagg A, Lind L. Polymorphisms in the angiotensinogen and angiotensin II type 1 receptor gene are related to change in left ventricular mass during antihypertensive treatment: results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol (SILVHIA) trial. *J Hypertens.* 2002;20(4):657-63

- [76] Jeunemaitre X, Soubrier F, Kotelevstev YV, et al. Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen. *Cell* 1992;71:169–180
- [77] Sethi AA, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. Angiotensinogen gene polymorphism, plasma angiotensinogen, and risk of hypertension and ischemic heart disease: a meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003; 23(7):1269-75
- [78] H Kawaguchi. Angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen gene polymorphism in hypertrophic cardiomyopathy. *Experimental & Clinical Cardiology* 2003;8(3):155-159
- [79] Gardemann A, Stricker J, Humme J, Nguyen QD, Katz N, Philipp M, Tillmanns H, Hehrlein FW, Haberbosch W. Angiotensinogen T174M and M235T gene polymorphisms are associated with the extent of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 1999;145(2):309-14
- [80] Hernandez Ortega E, Medina Fernandez-Aceituno A, Rodriguez Esparragon FJ, Hernandez Perera O, Melian Nuez F, Delgado Espinosa A, Fiuza Perez D, Anabitarte Prieto A, Rodriguez Perez JC. The involvement of the renin-angiotensin system gene polymorphisms in coronary heart disease. *Rev Esp Cardiol.* 2002;55(2):92-9
- [81] Nishikino M, Matsunaga T, Yasuda K, Adachi T, Moritani T, Tsujimoto G, Tsuda K, Aoki N. Genetic variation in the renin-angiotensin system and autonomic nervous system function in young healthy Japanese subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91(11):4676-81
- [82] Schelleman H, Klungel OH, Witteman JC, Breteler MM, Yazdanpanah M, Danser AH, Hofman A, van Duijn CM, de Boer A, Stricker BH. Angiotensinogen M235T polymorphism and the risk of myocardial infarction and stroke among hypertensive patients on ACE-inhibitors or beta-blockers. *Eur J Hum Genet.* 2007;15(4):478-84
- [83] Vasku A, Soucek M, Tschoplova S, Stejskalova A. An association of BMI with A (-6) G, M235T and T174M polymorphisms in angiotensinogen gene in essential hypertension. *J Hum Hypertens.* 2002;16(6):427-30

- [84] Bozec E, Lacolley P, Bergaya S, Boutouyrie P, Meneton P, Herisse-LeGrand M, Boulanger CM, Alhenc-Gelas F, Kim HS, Laurent S, Dabire H. Arterial stiffness and angiotensinogen gene in hypertensive patients and mutant mice. *J Hypertens.* 2004;22(7):1299-307
- [85] Kurland L, Liljedahl U, Karlsson J, Kahan T, Malmqvist K, Melhus H, Syvanen AC, Lind L. Angiotensinogen gene polymorphisms: relationship to blood pressure response to antihypertensive treatment. Results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation vs Atenolol (SILVHIA) trial. *Am J Hypertens.* 2004;17(1):8-13
- [86] Kurland L, Melhus H, Karlsson J, Kahan T, Malmqvist K, Ohman P, Nystrom F, Hagg A, Lind L. Polymorphisms in the angiotensinogen and angiotensin II type 1 receptor gene are related to change in left ventricular mass during antihypertensive treatment: results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol (SILVHIA) trial. *J Hypertens.* 2002;20(4):657-63
- [87] White PC. Mechanism of disease: disorders of aldosterone biosynthesis and action. *N Engl J Med* 1994;331:250–258
- [88] Young M, Fullerton M, Dilley R, Funder J. Mineralocorticoids, hypertension, and cardiac fibrosis. *J Clin Invest.* 1994;93(6):2578-83
- [89] A Hautanen, L Lankinen, M Kupari, O. A Janne, H Adlercreutz, H Nikkila, P. C White. Associations between aldosterone synthase gene polymorphism and the adrenocortical function in males. *Journal of Internal Medicine* 1998;243(7):11–18
- [90] Davies E, Holloway CD, Ingram MC, Inglis GC, Friel EC, Morrison C, Anderson NH, Fraser R, Connell JM. Aldosterone excretion rate and blood pressure in essential hypertension are related to polymorphic differences in the aldosterone synthase gene CYP11B2. *Hypertension* 1999;33(2):703-7

- [91] O'Brien E, Asmar R, Beilin L, Imai Y, Mallion JM, Mancia G, Mengden T, Myers M, Padfield P, Palatini P, Parati G, Pickering T, Redon J, Staessen J, Stergiou G, Verdecchia P; European Society of Hypertension Working Group on Blood Pressure Monitoring. European Society of Hypertension recommendations for conventional, ambulatory and home blood pressure measurement. *J Hypertens*. 2003;21(5):821-48
- [92] Bassett MH, Zhang Y, Clyne C, White PC, Rainey WE. Differential regulation of aldosterone synthase and 11beta-hydroxylase transcription by steroidogenic factor-1. *J Mol Endocrinol*. 2002;28(2):125-35
- [93] Casiglia E, Tikhonoff V, Mazza A, Rynkiewicz A, Limon J, Caffi S, et al. C-344T polymorphism of the aldosterone synthase gene and blood pressure in the elderly: a population-based study. *J Hypertens* 2005; 23:1991-1996
- [94] Kupari M, Hautanen A, Lankinen L, Koskinen P, Virolainen J, Nikkila H, White PC. Associations between human aldosterone synthase (CYP11B2) gene polymorphisms and left ventricular size, mass, and function. *Circulation*. 1998;97(6):569-75
- [95] Hautanen A, Toivanen P, Manttari M, Tenkanen L, Kupari M, Manninen V, Kayes KM, Rosenfeld S, White PC. Joint effects of an aldosterone synthase (CYP11B2) gene polymorphism and classic risk factors on risk of myocardial infarction. *Circulation* 1999;100(22):2213-8
- [96] Wang JG, Liu L, Zagato L, Xie J, Fagard R, Jin K, Wang J, Li Y, Bianchi G, Staessen JA, Liu L. Blood pressure in relation to three candidate genes in a Chinese population. *J Hypertens*. 2004;22(5):937-44
- [97] Stolarz K, Staessen JA, Kawecka-Jaszcz K, Brand E, Bianchi G, Kuznetsova T, Tikhonoff V, Thijs L, Reineke T, Babeanu S, Casiglia E, Fagard R, Filipovsky J, Peleska J, Nikitin Y, Struijker-Boudier H, Grodzicki T. European Project On Genes in Hypertension (EPOGH) Investigators. Genetic variation in CYP11B2 and AT1R influences heart rate variability conditional on sodium excretion. *Hypertension* 2004;44(2):156-62

- [98] Kurland L, Melhus H, Karlsson J, Kahan T, Malmqvist K, Ohman P, Nystrom F, Hagg A, Lind L. Aldosterone synthase (CYP11B2) -344 C/T polymorphism is related to antihypertensive response: result from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol (SILVHIA) trial. *Am J Hypertens*. 2002;15(5):389-93
- [99] Yu HM, Lin SG, Liu GZ, Zhang YQ, Ma WJ, Deng CY. Associations between CYP11B2 gene polymorphisms and the response to angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Clin Pharmacol Ther*. 2006;79(6):581-9
- [100] van Geel PP, Pinto YM, Zwinderman AH, Henning RH, van Boven AJ, Jukema JW, Bruschke AV, Kastelein JJ, van Gilst WH. Increased risk for ischaemic events is related to combined RAS polymorphism. *Heart* 2001;85(4):458-62
- [101] Araujo MA, Goulart LR, Cordeiro ER, Gatti RR, Menezes BS, Lourenco C, Silva HD. Genotypic interactions of renin-angiotensin system genes in myocardial infarction. *Int J Cardiol*. 2005;103(1):27-32
- [102] Anvari A, Turel Z, Schmidt A, Yilmaz N, Mayer G, Huber K, Schuster E, Gottsauner-Wolf M. Angiotensin-converting enzyme and angiotensin II receptor 1 polymorphism in coronary disease and malignant ventricular arrhythmias. *Cardiovasc Res*. 1999;43(4):879-83
- [103] Gruchala M, Ciećwierz D, Ochman K, Wasag B, Koprowski A, Wojtowicz A, Dubaniewicz W, Targoński R, Sobiczewski W, Grzybowski A, Romanowski P, Limon J, Rynkiewicz A. Left ventricular size, mass and function in relation to angiotensin-converting enzyme gene and angiotensin-II type 1 receptor gene polymorphisms in patients with coronary artery disease. *Clin Chem Lab Med*. 2003;41(4):522-8
- [104] Kim HS, Lee MM, Oh BH, Kim KI, Han KH, Park SK, Sohn DW, Yoo KY, Park YB, Choi YS, Lee YW. Synergistic effect of angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen gene on cardiac hypertrophy. *Int J Cardiol*. 2000; 72(2):151-61
- [105] Staessen JA, Wang JG, Brand E, Barlassina C, Birkenhager WH, Herrmann SM, Fagard R, Tizzoni L, Bianchi G. Effects of three candidate genes on prevalence and incidence of hypertension in a Caucasian population. *J Hypertens* 2001;19:1349–1358

- [106] Siani A, Russo P, Paolo Cappuccio F, Iacone R, Venezia A, Russo O, Barba G, Iacoviello L, Strazzullo P. Combination of renin-angiotensin system polymorphisms is associated with altered renal sodium handling and hypertension. *Hypertension* 2004;43(3):598-602
- [107] Borecki IB, Province MA, Ludwig EH, Ellison RC, Folsom AR, Heiss G, Lalouel JM, Higgins M, Rao DC. Associations of candidate loci angiotensinogen and angiotensin-converting enzyme with severe hypertension: The NHLBI Family Heart Study. *Ann Epidemiol.* 1997;7(1):13-21
- [108] Ludwig EH, Borecki IB, Ellison RC, Folsom AR, Heiss G, Higgins M, Lalouel JM, Province MA, Rao DC. Associations between candidate loci angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen with coronary heart disease and myocardial infarction: the NHLBI Family Heart Study. *Ann Epidemiol.* 1997;7(1):3-12
- [109] Petrovic D, Zorc M, Kanic V, Peterlin B. Interaction between gene polymorphisms of renin-angiotensin system and metabolic risk factors in premature myocardial infarction. *Angiology* 2001;52(4):247-52
- [110] Kosachunhanun N, Hunt SC, Hopkins PN, Williams RR, Jeunemaitre X, Corvol P, Ferri C, Mortensen RM, Hollenberg NK, Williams GH. Genetic determinants of nonmodulating hypertension. *Hypertension.* 2003;42(5):901-8
- [111] Abbate R, Marcucci R, Camacho-Venegas O et al. Role of platelet glycoprotein P1A1/A2 polymorphism in restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Am J Cardiol* 1998;82:524-5
- [112] Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes. *N Engl J Med.* 1992;326:242-250
- [113] Feng D, Lindpaintner K, Larson MG, Rao VS, O'Donnell CJ, Lipinska I, Schmitz C, Sutherland PA, Silbershatz H, D'Agostino RB, Muller JE, Myers RH, Levy D, Tofler GH. Increased platelet aggregability associated with platelet GPIIIa P1A2 polymorphism: the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19(4):1142-7

- [114] Frey UH, Aral N, Muller N, Siffert W. Cooperative effect of GNB3 825C>T and GPIIIa PI(A) polymorphisms in enhanced platelet aggregation. *Thromb Res.* 2003;109(5-6):279-86
- [115] Zotz RB, Deitenbeck R, Rehfeld ISB, Maruhn-Debowski B, Giers G, Bauer H, Winkelmann BR, Scharf RE. Increased platelet sensitivity related to GPIIIa polymorphism (HPA-1b/PLA2). *Circulation* 1997;96:I-664 (suppl)
- [116] Boekholdt SM, Peters RJ, de Maat MP, Zwinderman AH, van Der Wall EE, Reitsma PH, Jukema JW, Kastelein JJ. Interaction between a genetic variant of the platelet fibrinogen receptor and fibrinogen levels in determining the risk of cardiovascular events. *Am Heart J.* 2004;147(1):181-6
- [117] Carter AM, Ossei-Gerning N, Wilson IJ, Grant PJ. Association of the platelet PI(A) polymorphism of glycoprotein IIb/IIIa and the fibrinogen Bbeta 448 polymorphism with myocardial infarction and extent of coronary artery disease. *Circulation.* 1997;96(5):1424-31
- [118] Gruchala M, Cieciewicz D, Ochman K, Targonski R, Dubaniewicz W, Sobiczewski W, Wasag B, Drewla P, Skarzynski P, Romanowski P, Limon J, Rynkiewicz A. *Int J Cardiol.* Association between the PI(A) platelet glycoprotein GPIIIa polymorphism and extent of coronary artery disease. 2003;88(2-3):229-37
- [119] Zotz RB, Klein M, Dauben HP, Moser C, Gams E, Scharf RE. Prospective analysis after coronary-artery bypass grafting: platelet GP IIIa polymorphism (HPA-1b/PIA2) is a risk factor for bypass occlusion, myocardial infarction, and death. *Thromb Haemost.* 2000;83(3):404-7
- [120] Mikkelsen J, Perola M, Laippala P, Savolainen V, Pajarinen J, Lalu K, Penttila A, Karhunen PJ. Glycoprotein IIIa PI(A) polymorphism associates with progression of coronary artery disease and with myocardial infarction in an autopsy series of middle-aged men who died suddenly. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19(10):2573-8

- [121] Lopes NH, Pereira AC, Hueb W, Soares PR, Lanz JR, Gersh BJ, de Oliveira S, Cesar LA, Ramires JF, Krieger JE. Effect of glycoprotein IIIa P1A2 polymorphism on outcome of patients with stable coronary artery disease and effect of smoking. *Am J Cardiol.* 2004;93(12):1469-72
- [122] Slowik A, Dziedzic T, Turaj W, Pera J, Glodzik-Sobanska L, Szermer P, Malecki MT, Figlewicz DA, Szczudlik A. A2 allele of GpIIIa gene is a risk factor for stroke caused by large-vessel disease in males. *Stroke.* 2004;35(7):1589-93
- [123] Sajid M, Vijayan KV, Souza S, Bray PF. P1A polymorphism of integrin beta 3 differentially modulates cellular migration on extracellular matrix proteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22(12):1984-9
- [124] Dropinski J, Musial J, Sanak M, Wegrzyn W, Nizankowski R, Szczeklik A. Antithrombotic effects of aspirin based on PLA1/A2 glycoprotein IIIa polymorphism in patients with coronary artery disease. *Thromb Res.* 2007;119(3):301-3
- [125] Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Alfonso F, Sabate M, Fernandez C, Stranieri C, Trabetti E, Pignatti PF, Macaya C. P1A polymorphism and platelet reactivity following clopidogrel loading dose in patients undergoing coronary stent implantation. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2004;15(1):89-93
- [126] Glorioso N, Filigheddu F, Cusi D, Troffa C, Conti M, Natalizio M, Argiolas G, Barlassina C, Bianchi G. alpha-Adducin 460Trp allele is associated with erythrocyte Na transport rate in North Sardinian primary hypertensives. *Hypertension* 2002;39(2 Pt 2):357-62.
- [127] Matsuoka Y, Li X & Bennett V. Adducin: Structure, function and regulation. *Cell Mol Life Sci* 2000;57:884–895
- [128] Conway BR, Martin R, McKnight AJ, Savage DA, Brady HR, Maxwell AP. Role of alpha-adducin DNA polymorphisms in the genetic predisposition to diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant.* 2004;19(8):2019-24

- [129] Manunta P, Burnier M & D'Amico M. et al. Adducin polymorphism affects renal proximal tubule reabsorption in hypertension. *Hypertension* 1999;33:694–697
- [130] Castejon AM, Alfieri AB, Hoffmann IS, Rathinavelu A, Cubeddu LX. Alpha-adducin polymorphism, salt sensitivity, nitric oxide excretion, and cardiovascular risk factors in normotensive Hispanics. *Am J Hypertens.* 2003;16(12):1018-24
- [131] Yazdanpanah M, Sayed-Tabatabaei FA, Hofman A, Aulchenko YS, Oostra BA, Stricker BH, Pols HA, Lamberts SW, Witteman JC, Janssen JA, van Duijn CM. The alpha-adducin gene is associated with macrovascular complications and mortality in patients with type 2 diabetes. *Diabetes.* 2006;55(10):2922-7
- [132] Winnicki M, Somers VK, Accurso V, Hoffmann M, Pawlowski R, Frigo G, Visentin P, Palatini P; On behalf of the HARVEST Study Group. alpha-Adducin Gly460Trp polymorphism, left ventricular mass and plasma renin activity. *J Hypertens.* 2002;20(9):1771-7.
- [133] Tobin MD, Braund PS, Burton PR, Thompson JR, Steeds R, Channer K, Cheng S, Lindpaintner K, Samani NJ. Genotypes and haplotypes predisposing to myocardial infarction: a multilocus case-control study. *Eur Heart J.* 2004;25(6):459-67
- [134] Sciarrone MT, Stella P, Barlassina C, Manunta P, Lanzani C, Bianchi G, Cusi D. ACE and alpha-adducin polymorphism as markers of individual response to diuretic therapy. *Hypertension* 2003;41(3):398-403
- [135] von Beckerath N, Schusterschitz Y, Koch W, Griesser K, Mehilli J, Gorchakova O, Schomig A, Kastrati A. G protein beta 3 subunit 825T allele carriage and risk of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2003;167(1):135-9
- [136] Siffert W, Roskopf D, Siffert G, Busch S, Moritz A, Erbel R, Sharma AM, Ritz E, Wichmann HE, Jakobs KH, Horsthemke B. Association of a human G-protein beta3 subunit variant with hypertension. *Nat Genet.* 1998;18(1):45-8

- [137] Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999;340(2):115-26
- [138] Meirhaeghe A, Bauters C, Helbecque N, Hamon M, McFadden E, Lablanche JM, Bertrand M, Amouyel P. The human G-protein beta3 subunit C825T polymorphism is associated with coronary artery vasoconstriction. *Eur Heart J.* 2001;22(10):845-8
- [139] Naber CK, Husing J, Wolfhard U, Erbel R, Siffert W. Interaction of the ACE D allele and the GNB3 825T allele in myocardial infarction. *Hypertension.* 2000;36(6):986-9
- [140] Bae Y, Park C, Han J, Hong YJ, Song HH, Shin ES, Lee JE, Han BG, Jang Y, Shin DJ, Yoon SK. Interaction between GNB3 C825T and ACE I/D polymorphisms in essential hypertension in Koreans. *J Hum Hypertens.* 2007;21(2):159-66
- [141] Siffert W, Forster P, Jockel KH, Mvere DA et al. Worldwide ethnic distribution of the G protein beta3 subunit 825T allele and its association with obesity in Caucasian, Chinese, and Black African individuals. *J Am Soc Nephrol.* 1999;10(9):1921-30
- [142] Mahmood MS, Mian ZS, Afzal A, Frossard PM. G-protein beta-3 subunit gene 825C>T dimorphism is associated with left ventricular hypertrophy but not essential hypertension. *Med Sci Monit.* 2005;11(1):CR6-9
- [143] Morrison AC, Doris PA, Folsom AR, Nieto FJ, Boerwinkle E; Atherosclerosis Risk in Communities Study. G-protein beta3 subunit and alpha-adducin polymorphisms and risk of subclinical and clinical stroke. *Stroke.* 2001;32(4):822-9
- [144] Turner ST, Schwartz GL, Chapman AB, Boerwinkle E. C825T polymorphism of the G protein beta(3)-subunit and antihypertensive response to a thiazide diuretic. *Hypertension.* 2001;37(2 Part 2):739-43
- [145] Matsunaga T, Nagasumi K, Yamamura T, Gu N, Nishikino M, Ueda Y, Moritani T, Aoki N, Tsuda K, Yasuda K. Association of C825T polymorphism of G protein beta3 subunit with the autonomic nervous system in young healthy Japanese individuals. *Am J Hypertens.* 2005;18(4 Pt 1):523-9

- [146] Bumett JC, Granger JP, Opaenorth TJ. Effects of synthetic atrial natriuretic factor on renal function and renin release. *Am J Physiol* 1984; 247: F863-F866
- [147] Nemer M, Antakly T, Argentin S, Lavigne JP, Drouin J. Cloning and expression of the atrial natriuretic factor gene. *Clin Physiol Biochem*. 1988;6(3-4):163-70
- [148] A M Richards, M G Nicholls, T G Yandle et al. Neuroendocrine prediction of left ventricular function and heart failure after acute myocardial infarction. *Heart* 1999;81:114-120
- [149] T. Horio, T. Nishikimi, F. Yoshihara, H. Matsuo, S. Takishita, K. Kangawa. Inhibitory regulation of hypertrophy by endogenous atrial natriuretic peptide in cultured cardiac myocytes. *Hypertension* 35 (2000), pp. 19–24
- [150] Itoh H, Pratt RE, Dzau VJ. Atrial natriuretic polypeptide inhibits hypertrophy of vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest*. 1990;86:1690–1697
- [151] Casco VH, Veinot JP, Kuroski de Bold ML, Masters RG, Stevenson MM, de Bold AJ. Natriuretic peptide system gene expression in human coronary arteries. *J Histochem Cytochem*. 2002;50(6):799-809
- [152] Matsuo H, Furuya M. C-Type Natriuretic Protein Inhibits Intimal Thickening after Vascular Injury. *Ann N Y Acad Sci*. 1997;811:45-7
- [153] Masharani U, Nakashima PF, Lim DW, Frossard PM. NsiI and ScaI restriction fragment length polymorphisms at the atrial natriuretic peptides (ANP) gene locus. *Hum Genet*. 1988;80(3):307
- [154] Gruchala M, Cieciewicz D, Wasag B et al. Association of the ScaI atrial natriuretic peptide gene polymorphism with nonfatal myocardial infarction and extent of coronary artery disease. *Am Heart J*. 2003;145(1):125-31

- [155] Ciechanowicz A, Kurzawski G, Widecka K, Gozdzik J, Adler G, Czekalski S. Mutation T->C of nucleotide 2238 in the gene of atrial natriuretic peptide (ANP) precursor and heterogeneity of sodium-sensitive hypertension. Preliminary report. *Pol Arch Med Wewn.* 1997;98(12):501-9
- [156] Rubattu S, Ridker P, Stampfer MJ, Volpe M, Hennekens CH, Lindpaintner K. The gene encoding atrial natriuretic peptide and the risk of human stroke. *Circulation* 1999;100(16):1722-6
- [157] Nannipieri M, Manganiello M, Pezzatini A, De Bellis A, Seghieri G, Ferrannini E. Polymorphisms in the hANP (human atrial natriuretic peptide) gene, albuminuria, and hypertension. *Hypertension.* 2001;37(6):1416-22
- [158] Gruntzig AR, Senning A, Siegenthaler WE. Nonoperative dilation of coronary artery stenosis: percutaneous transluminal coronary angioplasty. *N Engl J Med* 1979;301:61– 8
- [159] 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
- [160] 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
- [161] Katsuya T., Koike G., Yee T.W. et al. Association of angiotensinogen gene T235 variant with increased risk of coronary heart disease. *Lancet* 1995;345:1600-1603
- [162] Weiss EJ, Bray PF, Tayback M, Schulman SP, Kickler TS, Becker LC, Weiss JL, Gerstenblith G, Goldschmidt-Clermont PJ. A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. *N Engl J Med.* 1996;334(17):1090-4

- [163] Ramasawmy R., Kotea N., Lu C. Et al. 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
- [164] Radosław Targoński, Wartość prognostyczna analizy polimorfizmów genów układu renina-angiotensyna, receptorów płytkowych oraz genu przedsionkowego czynnika natriuretycznego u chorych po zabiegach niechirurgicznej rewaskularyzacji tętnic wieńcowych - rozprawa doktorska, 2003
- [165] Rakugi H, Kim DK, Krieger JE, Wang DS., Dzau VJ, Pratt RE. Induction of angiotensin converting enzyme in the neointima after vascular injury. Possible role in restenosis. *J Clin Invest* 1994; 93: 339-46
- [166] Guneri S, Baris N, Aytakin D, Akdeniz B, Pekel N, Bozdemir V. The relationship between angiotensin converting enzyme gene polymorphism, coronary artery disease, and stent restenosis: the role of angiotensin converting enzyme inhibitors in stent restenosis in patients with diabetes mellitus. *Int Heart J.* 2005; 46(5):889-97
- [167] Viswanathan M, Stromberg C, Seitzer A, Saavedra JM. Balloon angioplasty enhances the expression of angiotensin II AT1 receptors in neointima of rat aorta. *J Clin Invest.* 1992;90:1707-1712
- [168] Hamon M, Amant C, Bauters C et al. 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
- [169] Stangl K, Cascorbi I, Stangl V, Laule M, Mrozikiewicz PM, Schwarz M, Felix SB. A1166C polymorphism of the angiotensin II type 1 receptor gene and risk of adverse events after coronary catheter interventions. *Am Heart J* 2000;140:170-5
- [170] Hertwig S, Volzke H, Robinson DM, Motz W, Rettig R. Angiotensinogen M235T gene polymorphism and recurrent restenosis after repeated percutaneous transluminal coronary angiography. *Clin Sci (Lond).* 2002;103(1):101-6

- [171] Toyofyuku M, Imazu M, Sumii K, Yamamoto H, Hayashi Y, Hiyama K, Kohno N. Influence of angiotensinogen M253T gene polymorphism and an angiotensin converting enzyme inhibitor on restenosis after percutaneous coronary intervention. *Atherosclerosis* 2002;160(2):339-44
- [172] Pojoga L, Gautier S, Blanc H, Guyene TT, Poirier O, Cambien F, Benetos A. Genetic determination of plasma aldosterone levels in essential hypertension. *Am J Hypertens.* 1998;11(7):856-60
- [173] Paillard F, Chansel D, Brand E, Benetos A, Thomas F, Czekalski S, Ardaillou R, Soubrier F. Genotype-phenotype relationships for the renin-angiotensin-aldosterone system in a normal population. *Hypertension.* 1999;34(3):423-9
- [174] Matsubara M, Sato T, Nishimura T, Suzuki M, Kikuya M, Metoki H, Michimata M, Tsuji I, Ogihara T, Imai Y. CYP11B2 polymorphisms and home blood pressure in a population-based cohort in Japanese: the Ohasama study. *Hypertens Res.* 2004;27(1):1-6
- [175] Feng D, Lindpaintner K, Larson MG, Rao VS, O'Donnell CJ, Lipinska I, Schmitz C, Sutherland PA, Silbershatz H, D'Agostino RB, Muller JE, Myers RH, Levy D, Tofler GH. Increased platelet aggregability associated with platelet GPIIIa P1A2 polymorphism: the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19(4):1142-7
- [176] Carter AM, Ossei-Gerning N, Wilson IJ, Grant PJ. Association of the platelet P1(A) polymorphism of glycoprotein IIb/IIIa and the fibrinogen Bbeta 448 polymorphism with myocardial infarction and extent of coronary artery disease. *Circulation.* 1997;96(5):1424-31
- [177] Kastrati A, Schomig A, Seyfarth M, Koch W, Elezi S, Bottiger C, Mehilli J, Schomig K, von Beckerath N. P1A polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risk of restenosis after coronary stent placement. *Circulation* 1999;99(8):1005-10
- [178] Kastrati A, Seyfarth M, Koch W et al. P1A polymorphism of the platelet glycoprotein IIIa is associated with higher risk for restenosis after coronary stent placement. *Circulation* 1998; (Suppl):I-434 (Abstr.).

- [179] Cusi D, Barlassina C, Azzani T, Casari G, Citterio L, Devoto M, Glorioso N, Lanzani C, Manunta P, Righetti M, Rivera R, Stella P, Troffa C, Zagato L, Bianchi G. Polymorphisms of α -adducin and salt sensitivity in patients with essential hypertension. *Lancet* 1997;349:1353–1357
- [180] Beeks E, Kessels AG, Kroon AA, van der Klauw MM, de Leeuw PW. Genetic predisposition to salt-sensitivity: a systematic review. *J Hypertens*. 2004;22(7):1243-9
- [181] van Rijn MJ, Bos MJ, Yazdanpanah M, Isaacs A, Arias-Vasquez A, Koudstaal PJ, Hofman A, Witteman JC, van Duijn CM, Breteler MM. Alpha-adducin polymorphism, atherosclerosis, and cardiovascular and cerebrovascular risk. *Stroke*. 2006;37(12):2930-4
- [182] Yamamoto M, Abe M, Jin JJ, Wu Z, Tabara Y, Mogi M, Kohara K, Miki T, Nakura J. Association of GNB3 gene with pulse pressure and clustering of risk factors for cardiovascular disease in Japanese. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;316(3):744-8
- [183] Ishikawa K, Imai Y, Katsuya T, Ohkubo T, Tsuji I, Nagai K, Takami S, Nakata Y, Satoh H, Hisamichi S, Higaki J, Ogihara T. Human G-protein beta3 subunit variant is associated with serum potassium and total cholesterol levels but not with blood pressure. *Am J Hypertens*. 2000;13(2):140-5
- [184] Poch E, Giner V, Gonzalez-Nunez D, Coll E, Oriola J, de la Sierra A. Association of the G protein beta3 subunit T allele with insulin resistance in essential hypertension. *Clin Exp Hypertens*. 2002;24(5):345-53
- [185] Kedzierska K, Ciechanowski K, Safranow K, Bober J, Golembiewska E, Kwiatkowska E, Kabat-Koperska J, Ostrowski M, Adler G, Chlubek D. GNB3 C825T and ACE I/D polymorphisms on the sodium-proton exchanger and the prevalence of essential hypertension in males. *Arch Med Res*. 2006 Jan;37(1):150-7
- [186] Schulz HD, Gardner DG, Deschepper CF, Vagal C-fiber blockade abolishes sympathetic inhibition by atrial natriuretic factor. *Am J Physiol* 1988; 155: R6-R13

[187] M. Gruchała, A. Rynkiewicz, Podstawy genetyki w kardiologii. Viamedica, Gdańsk
2003

X. ANEKS

Wykaz używanych skrótów:

LP – liczba porządkowa

INI – inicjały pacjenta

PŁ – płeć

STENT – informacja o ewentualnej implantacji stentu w czasie zabiegu PCI

MC – masa ciała

WZR – wzrost

BMI – wskaźnik masy ciała

EVENT – rodzaj incydentu wieńcowego w czasie obserwacji

EF – frakcja wyrzutowa lewej komory serca

TC – poziom cholesterolu całkowitego

GLC – poziom glukozy na czczo

TYT – informacja o ewentualnym nikotynizmie

DM – informacja o obecności cukrzycy

NT – informacja o obecności nadciśnienia tętniczego

MI – informacja o dodatnim wywiadzie w kierunku zawału serca

ANP – genotyp polimorfizmu *ScaI ANP*

ADD1 – genotyp polimorfizmu *G460W ADD1*

CYP – genotyp polimorfizmu *C344T CYP11B2*

ACE – genotyp polimorfizmu *I/D ACE*

AGT – genotyp polimorfizmu *M235T AGT*

GNB – genotyp polimorfizmu *C825T GNB-3*

AT1R – genotyp polimorfizmu *A1166C AT1R*

GP – genotyp polimorfizmu *PLA1/PLA2 GPIIIa*

UA – epizod niestabilnej choroby wieńcowej w okresie obserwacji

TVR – rewaskularyzacja leczonego naczynia w okresie obserwacji

PCI – zabieg angioplastyki wieńcowej w okresie obserwacji

AMI – ostry zawał serca w okresie obserwacji

ZG – zgon w okresie obserwacji

CABG – CABG w okresie obserwacji