

Uniwersytet Jagielloński

Collegium Medicum

Wydział Lekarski

Jeremiasz Jagieła

**Znaczenie wybranych polimorfizmów genów związanych z
układem krzepnięcia i procesem zapalnym dla ryzyka
pierwotnego krwotoku śródmózgowego**

Praca doktorska

Promotor: prof. dr hab. n. med. Joanna Pera

Pracę wykonano w Katedrze Neurologii UJ CM

w Krakowie

Kierownik jednostki: prof. dr hab. n. med. Agnieszka Słowik

Kraków, 2017

SPIS TREŚCI

1.	Wstęp.....	4
1.1.	Krwotok śródmózgowy - definicja, epidemiologia, rokowanie	4
1.2.	Czynniki ryzyka krwotoku śródmózgowego.....	7
1.3.	Genetyczne czynniki ryzyka krwotoku śródmózgowego – geny związane z układem krzepnięcia i procesem zapalnym.....	12
2.	Cele badania.....	18
3.	Uczestnicy i metody.....	19
3.1.	Uczestnicy badania.....	19
3.2.	Metody.....	21
3.2.1.	Kwestionariusz danych.....	21
3.2.2.	Czynniki ryzyka.....	22
3.2.3.	Analiza genetyczna.....	24
3.2.4.	Analizy statystyczne.....	25
4.	Wyniki.....	27
4.1.	Charakterystyka demograficzna i profil czynników ryzyka u chorych na pierwotny krwotok śródmózgowy i u osób z grupy kontrolnej w populacjach: polskiej i greckiej.....	27
4.2.	Polimorfizm <i>FGB</i> -455G>A (rs1800790) a ryzyko zachorowania na pierwotny krwotok śródmózgowy.....	31
4.3.	Polimorfizm <i>F13A1</i> Val34Leu (rs5985) a ryzyko zachorowania na pierwotny krwotok śródmózgowy.....	36
4.4.	Polimorfizm <i>CRP</i> +1444 C>T (rs1130864) a ryzyko zachorowania na pierwotny krwotok śródmózgowy.....	41
4.5.	Polimorfizm <i>IL6</i> -174G>C (rs1800795) a ryzyko zachorowania na pierwotny krwotok śródmózgowy.....	46

5.	Dyskusja.....	51
6.	Wnioski.....	71
7.	Streszczenie w języku polskim.....	73
8.	Summary.....	76
9.	Piśmiennictwo.....	78
10.	Załączniki.....	104

1. Wstęp

1.1. Krwotok śródmózgowy – definicja, epidemiologia, rokowanie

Udar mózgu jest na świecie drugą w kolejności przyczyną zgonów (Lozano i wsp., 2012) oraz trzecią przyczyną przewlekłej niepełnosprawności u osób dorosłych (Murray i wsp., 2012). Chociaż pierwotny krwotok śródmózgowy stanowi około 15% wszystkich udarów (Sudlow i wsp., 1997; Feigin i wsp., 2009), to jednak długotrwałe skutki zdrowotne powodowane przez niego dorównują w skali świata skutkom udaru niedokrwiennego (Krishnamurthi i wsp., 2013).

Udar mózgu został zdefiniowany przez Światową Organizację Zdrowia (WHO, ang. *World Health Organization*) jako nagłe ogniskowe lub uogólnione zaburzenie czynności mózgu, wynikające z przyczyny naczyniowej i trwające dłużej niż dwadzieścia cztery godziny albo prowadzące wcześniej do śmierci (Aho i wsp., 1980). Definicja ta obejmuje udar niedokrwienny, krwotok śródmózgowy oraz krwotok podpajęczynówkowy.

W 2013 roku Amerykańskie Stowarzyszenie Chorób Serca (AHA, ang. *American Heart Association*) oraz Amerykańskie Stowarzyszenie Udaru Mózgu (ASA, ang. *American Stroke Association*) zaproponowały nową definicję udaru mózgu. Zgodnie z nią krwotok śródmózgowy (ang. *intracerebral haemorrhage*) został zdefiniowany jako wynaczynienie krwi do mózgu lub komór mózgowych nie spowodowane przez uraz. Natomiast udar spowodowany przez krwotok śródmózgowy zdefiniowano jako gwałtownie występujące objawy lub deficyty neurologiczne spowodowane przez krwotok śródmózgowy (Sacco i wsp., 2013). Krwotok śródmózgowy może być wtórny do pęknięcia malformacji naczyniowej, zapalenia naczyń, koagulopatii, krwawienia do guza, czy też ukrwotoczenia zawału mózgu. Jeżeli nie udaje się znaleźć w badaniach dodatkowych żadnej przyczyny krwawienia, mówimy o pierwotnym krwotoku śródmózgowym (Sutherland i Auer, 2006).

Uważa się, że przyczyną pierwotnego krwotoku śródmózgowego jest waskulopatia dotycząca naczyń tętniczych małego i średniego kalibru: albo zlokalizowanych głęboko tętnic przeszywających (zwykle angiopatia nadciśnieniowa), albo zlokalizowanych powierzchownie tętnic korowych (zwykle angiopatia amyloidowa) (Ritter i wsp., 2005; Ferro, 2006; Caceres i wsp., 2012).

Na świecie krwotoku śródmózgowego co roku doznaje około dwa do trzech milionów ludzi (WHO, 2010). Trendy w zapadalności rocznej są różnie szacowane: wyniki niektórych badań wskazują na tendencję rosnącą (Flaherty i wsp., 2007), według innych utrzymuje się na stałym poziomie (Sivenius i wsp., 2004; van Asch i wsp., 2010). Te rozbieżności w dużej mierze są związane z czynnikami geograficznymi i etnicznymi. Według metaanalizy z 2010 roku, obejmującej 36 badań z łączną liczbą 8146 chorych z krwotokiem śródmózgowym, średnia zapadalność wynosiła 24,6 na 100 000 osób na rok (95% CI, przedział ufności: 19,7-30,7) (van Asch i wsp., 2010). Z kolei w badaniu z 2013 roku *Global Burden of Disease Study* wykazano, że zapadalność na krwotok mózgowy (rozpatrywany łącznie krwotok śródmózgowy i krwotok podpajęczynówkowy) maleje w krajach wysokorozwiniętych, zaś znacząco rośnie w państwach średnio- i niskorozwiniętych (Krishnamurthi i wsp., 2013).

W Polsce współczynniki zapadalności na udar mózgu, po standaryzacji dla populacji europejskiej, wynoszą 177/100 000 dla mężczyzn i 125/100 000 dla kobiet (Członkowska i wsp., 1999), przy czym około 11% wszystkich zarejestrowanych udarów stanowił krwotok śródmózgowy (Ryglewicz i wsp., 2003). Dane dla populacji Krakowa według Krakowskiego Rejestru Udarowego, po standaryzacji dla populacji europejskiej, są następujące: zapadalność na udar w ogóle 180/100 000 (218/100 000 wśród mężczyzn i 152/100 000 wśród kobiet). Pacjenci z krwotokiem śródmózgowym stanowili 7,8%, ale około 37% procent udarów stanowiły udary nieokreślone (Słowik i wsp., 2007). Według danych podanych przez Narodowy Fundusz Zdrowia (NFZ), w Polsce w 2011 roku zarejestrowano łącznie 93 232 hospitalizacji spowodowanych zachorowaniem na udar mózgu. W tym 6036 (6,47%) było spowodowane przez krwotok śródmózgowy, z czego 3649 (59,9%) zachorowań stanowiły podkorowe krwotoki śródmózgowe (Bogucki i wsp., 2013). Powyższe wartości są zbliżone z innymi danymi z populacji Europy środkowej i środkowo-wschodniej (Kolominsky-Rabas i wsp., 1998; Wolfe i wsp., 2000; Palm i wsp., 2010).

Jeśli chodzi o przebieg choroby i jej następstwa, to krwotok śródmózgowy niezmiennie utrzymuje się na szczycie zestawień zarówno pod względem wysokich współczynników wczesnej śmiertelności jak i późnej niepełnosprawności, które pozostają praktycznie niezmiennie pomimo niewielkiego spadku zapadalności (Zahuranec i wsp., 2014).

Śmiertelność wśród pacjentów z pierwotnym krwotokiem śródmózgowym jest największa w pierwszym miesiącu po zachorowaniu. Wynosi ona około 30% i w ciągu ostatnich lat utrzymuje się na podobnym poziomie (Rincon i wsp., 2013; Krishnamurthi i wsp., 2013). Wskaźniki śmiertelności w kolejnych miesiącach po zachorowaniu zmieniają się tylko nieznacznie. W badaniu oceniającym skuteczność czynnika VII w ostrym krwotoku śródmózgowym (*the Factor Seven for Acute Hemorrhagic Stroke, FAST*), w którym brało udział ponad 800 chorych z krwotokiem śródmózgowym z 22 krajów, średnia śmiertelność po 90 dniach od zachorowania wynosiła 20%, wahając się w różnych populacjach pomiędzy 5% a 38% (Christensen i wsp., 2009). Te wyniki są zbieżne z danymi z innego badania dotyczącego Europy środkowej i zachodniej, według którego średnia śmiertelność po trzech miesiącach wynosiła 29% (Wolfe i wsp., 1999).

Stosunkowo niewiele jest natomiast prac dotyczących śmiertelności w odległym czasie po przebytych krwotoku śródmózgowym. W kontynuacji cytowanego powyżej badania autorstwa Wolfe i wsp. prowadzonego w Europie środkowej i zachodniej, śmiertelność po upływie roku od zachorowania na krwotok śródmózgowy wynosiła 38% (2004). Podobne wyniki przyniosło inne badanie niemieckie przeprowadzone w 30 ośrodkach, w którym brało udział 586 pacjentów. Stwierdzono w nim, że roczna śmiertelność wyniosła 34% (Weimar i wsp., 2003).

Pesymistyczne są również dane o powrocie do sprawności po przebytych krwotoku i związanej z tym samodzielności pacjentów. W przywoływanym już badaniu FAST oceniano te zagadnienia po upływie 90 dni od zachorowania. Jeżeli chodzi o zdolność pacjentów do samodzielnego życia, to 81% badanych osiągnęło wynik ≥ 2 w zmodyfikowanej skali Rankina (mRS, ang. *Modified Rankin Scale*), co oznacza umiarkowaną lub bardziej zaawansowaną niepełnosprawność. Z kolei 64% pacjentów uzyskało wynik niższy niż 94 punkty według Indeksu Barthla (BI, ang. *Barthel Index*), równoznaczny z zależnością od innych osób w codziennym funkcjonowaniu (Christensen i wsp., 2009). Podobne wyniki po 3 miesiącach od zachorowania na krwotok, odnotowano także w populacji europejskiej: 46% pacjentów uzyskało wynik niższy niż 20 punktów według BI, zaś 54% w mRS zostało ocenionych na więcej niż 2 punkty (Wolfe i wsp., 1999). Jeżeli chodzi o dane dotyczące odległego rokowania, to w analizie van Asch i wsp. tylko od 12% do 39% pacjentów w rok po przebytych

krwotoku śródmózgowym było w stanie prowadzić życie niezależne od pomocy innych (2010). W cytowanym już wielośrodkowym badaniu niemieckim wartość ta wynosiła 31% (Weimar i wsp., 2003). Z kolei według innego, też już wspomnianego, badania europejskiego odsetek pacjentów wymagających stałej opieki, stanowił, w zależności od kraju, od 35% do 77% chorych z krwotokiem śródmózgowym (Wolfe i wsp., 2004).

Dane dotyczące przeżywalności w Krakowie z prowadzonego w latach 1999-2000 Krakowskiego Rejestru Udarowego są nieznacznie gorsze od cytowanych powyżej. Śmiertelność 30-dniowa, 90-dniowa oraz roczna wynosiły odpowiednio: 44%, 56% oraz 61%. Różnice te mogą być związane z dość dużym odsetkiem udarów o nieokreślonym, niedokrwiennym albo krwotocznym, charakterze (Słowik i wsp., 2007).

1.2. Czynniki ryzyka krwotoku śródmózgowego

Czynniki ryzyka krwotoku śródmózgowego można podzielić na niemodyfikowalne i modyfikowalne. Do niemodyfikowalnych czynników ryzyka krwotoku śródmózgowego zaliczamy: wiek, płeć męską oraz rasę inną niż biała.

Wiek jest istotnym czynnikiem ryzyka krwotoku śródmózgowego we wszystkich przeprowadzonych do tej pory badaniach. W metaanalizie pięciu badań kohortowych obejmującej łącznie 975 pacjentów oraz 294 684 osoby w grupach kontrolnych wykazano, że ryzyko krwotoku zwiększa się prawie dwukrotnie wraz z wzrostem wieku pacjenta o dziesięć lat (Ariesen i wsp., 2003). W kolejnym badaniu prospektywnym wykazano, że wiek jest istotnym czynnikiem ryzyka krwotoku, przy czym poniżej 45 roku życia jest to znacznie silniejszy czynnik ryzyka w populacji rasy czarnej, zaś po 75 roku życia trend ten ulega odwróceniu tak, że w populacji osób najstarszych ryzyko krwotoku śródmózgowego jest wyższe u osób rasy białej (Sturgeon i wsp., 2007). Najnowsze duże badanie czynników ryzyka udaru REGARDS (ang. *the REasons for Geographic And Racial Differences in Stroke study*) również wykazało związek wieku z ryzykiem krwotoku śródmózgowego oraz potwierdziło opisany powyżej wpływ wieku na zapadalność na krwotok śródmózgowy dla rasy białej i czarnej (Howard i wsp., 2013).

Kolejnym istotnym czynnikiem ryzyka krwotoku śródmózgowego jest płeć męska. Iloraz ryzyka względnego (RR, ang. *relative risk*) dla badań kohortowych i kliniczno-kontrolnych wyliczony w metaanalizie z 2003 roku wynosił 3,73 (Ariesen i wsp., 2003). Potwierdziło to badanie REGARDS, w którym płeć męska zwiększała blisko trzykrotnie ryzyko zachorowania na krwotok śródmózgowy (HR=2,83; 95% CI: 1,63-4,9; HR, ang. *hazard ratio*, hazard względny).

Następnym niemodyfikowalnym czynnikiem krwotoku śródmózgowego jest rasa. Pierwsza analiza retrospektywna z obszaru metropolii Cincinnati (*Greater Cincinnati Metropolitan Area*) wykazała większą zapadalność na krwotok śródmózgowy wśród osób rasy czarnej w młodszy i średnim wieku (Broderick i wsp., 1992). Zostało to potwierdzone w kolejnych badaniach obejmujących inne, znacznie większe, populacje w Stanach Zjednoczonych (Sturgeon i wsp., 2007; Howard i wsp., 2013). Także w badaniu Labovitza i wsp. ryzyko zachorowania na krwotok śródmózgowy w populacji białej było znacznie mniejsze, nie tylko w porównaniu z rasą czarną, ale także z hiszpańskojęzycznymi mieszkańcami Ameryki pochodzenia karaibskiego (2005). Znacznie wyższe współczynniki zapadalności na krwotok śródmózgowy, w porównaniu z rasą białą, stwierdzono też w badaniach przeprowadzonych w Ameryce Południowej u osób pochodzenia europejsko-indiańskiego (Lavados i wsp., 2005), a także w populacji japońskiej (Kubo i wsp., 2003) oraz chińskiej (Jiang i wsp., 2006).

Jeżeli chodzi o modyfikowalne czynniki ryzyka pierwotnego krwotoku śródmózgowego, to najistotniejszym z nich jest nadciśnienie tętnicze. Częstsze występowanie nadciśnienia tętniczego u chorych z krwotokiem śródmózgowym w porównaniu do grupy kontrolnej opisano już 1973 roku (Lavy i wsp.). Metaanaliza z 2003 roku wykazała istotny wpływ nadciśnienia tętniczego na ryzyko wystąpienia krwotoku śródmózgowego zarówno w trzech badaniach kohortowych, jak i w jedenastu badaniach kliniczno-kontrolnych (Ariesen i wsp.). W dużym badaniu kliniczno-kontrolnym obejmującym 188 chorych oraz 366 osoby w grupie kontrolnej, Woo i wsp. wykazali, że nadciśnienie tętnicze jest czynnikiem ryzyka dla głębokiego krwotoku śródmózgowego (2002). Z kolei w badaniu REGARDS opisano zwiększenie ryzyka krwotoku śródmózgowego wraz ze wzrostem wartości skurczowego ciśnienia tętniczego krwi, ale nie stwierdzono korelacji pomiędzy rozpoznany i leczonym nadciśnieniem tętniczym a krwotokiem. Wynika to najprawdopodobniej z opisanego przez

Woo i wsp. wpływu leczenia hipotensyjnego na znaczną redukcję ryzyka krwotoku śródmózgowego (2004).

Kolejnym istotnym modyfikowalnym czynnikiem ryzyka jest palenie papierosów. W badaniu INTERSTROKE przeprowadzonym w 22 krajach i obejmującym 3000 pacjentów oraz 3000 osób w grupie kontrolnej, wykazano ponad dwukrotnie zwiększone ryzyko (OR, ang. *odds ratio*, iloraz szans) dla palaczy w porównaniu z osobami, które nie paliły bądź zaprzestały palenia papierosów (OR=2,09; 95% CI: 1,75-2,51). Ponadto, dla krwotoku śródmózgowego ryzyko wzrasta znacząco przy paleniu powyżej dwudziestu papierosów dziennie (O'Donnell i wsp., 2010). W wykonanej przez Ariesen i wsp. metaanalizie wykazano zwiększenie ryzyka krwotoku śródmózgowego dla aktualnych palaczy, natomiast nie wykazano takiej korelacji dla palenia papierosów w przeszłości (2003).

Już pierwsze badania populacyjne wykazywały związek pomiędzy spożywaniem alkoholu a ryzykiem krwotoku śródmózgowego, zwłaszcza zlokalizowanego płatowo u osób młodych i w średnim wieku (Monforte i wsp., 1990; Thrift i wsp., 1999). W późniejszym populacyjnym badaniu przeprowadzonym przez Woo i wsp. także potwierdzono zależność pomiędzy częstym spożyciem alkoholu oraz wzrostem ryzyka zachorowania na płatowy krwotok śródmózgowy (2002). W metaanalizie Ariesen i wsp. wykazano też, że ryzyko zachorowania wzrasta wraz ze wzrostem dawki alkoholu (2003). Pierwsza duża metaanaliza oceniająca tylko wpływ alkoholu na krwotok śródmózgowy wykazała liniową zależność pomiędzy ryzykiem krwotoku śródmózgowego a spożywaną dawką alkoholu u mężczyzn oraz zależność opisaną krzywą J dla kobiet (ze wzrostem ryzyka rozpoczynającym się od 3 jednostek alkoholu dziennie i nadirem krzywej przy 1 jednostce dziennie) (Patra i wsp., 2010). Podobne wyniki przyniosło badanie INTERSTROKE, w którym odnotowano wzrost ryzyka krwotoku śródmózgowego już poniżej dawki 30 jednostek na miesiąc oraz dalsze jego wzrastanie wraz ze zwiększaniem spożycia (O'Donnell i wsp., 2010).

W badaniu INTERSTROKE analizowano także wpływ diety na krwotok śródmózgowy. Związek ze zwiększonym ryzykiem zachorowania miało spożywanie między innymi: czerwonego mięsa, jajek, smażonych posiłków oraz słonych przekąsek. Natomiast owoce oraz ryby istotnie zmniejszały to ryzyko (O'Donnell i wsp., 2010).

W powyższym badaniu nie znaleziono korelacji pomiędzy wskaźnikiem masy ciała (BMI, ang. *Body Mass Index*) a krwotokiem śródmózgowym. Wykazano natomiast zależność pomiędzy podwyższonym wskaźnikiem określającym stosunek talii do bioder (WHR, ang. *waist-to-hip ratio*) a ryzykiem zachorowania (O'Donnell i wsp., 2010).

Czynnikiem, którego wpływ na ryzyko krwotoku śródmózgowego jest niejednoznaczny, jest cukrzyca. W metaanalizie z 2003 roku, po połączeniu danych zebranych z dostępnych dziewięciu badań, wyliczono istotne statystycznie ryzyko względne RR=1,30 (95%CI: 1,02 - 1,67) (Ariesen i wsp., 2003). Powyższej korelacji nie potwierdzono jednak w późniejszych pojedynczych badaniach (Wiberg i wsp, 2009; Wieberdink i wsp., 2012) oraz w badaniu INTERSTROKE. Pośrednim dowodem na związek cukrzycy z zapadalnością na krwotok śródmózgowy może być natomiast opisana w badaniu REGARDS zależność pomiędzy ryzykiem zachorowania na krwotok śródmózgowy a insulinoopornością (Howard i wsp., 2014).

Szeroko dyskutowanym czynnikiem ryzyka krwotoku śródmózgowego jest stężenie cholesterolu. Po raz pierwszy w 1989 roku udowodniono w dużym, obejmującym 350 977 mężczyzn, sześciolletnim badaniu przesiewowym, że wysokie stężenie cholesterolu ma działanie protekcyjne dla zachorowania na krwotok śródmózgowy (Iso i wsp., 1989). Podobną zależność opisano w prospektywnym badaniu z 2007 roku obejmującym 15 792 mężczyzn i kobiet (Sturgeon i wsp., 2007). Z drugiej strony, dowodów nie wprost na brak relacji pomiędzy podwyższonym stężeniem cholesterolu a ryzykiem krwotoku śródmózgowego dostarczają badania na pacjentach przyjmujących leki hipolipemizujące. Metaanaliza badająca znaczenie statyn dla profilaktyki udaru, nie wykazała zależności pomiędzy ich zażywaniem, a ryzykiem zachorowania na krwotok śródmózgowy (Corvol i wsp., 2003). Także kolejne badania i ich metaanaliza nie wykazały, aby statyny zwiększały zapadalność na krwotok śródmózgowy (McKinney i wsp., 2012).

W badaniu INTERSTROKE wykazano, że wysokie stężenie całkowitego cholesterolu oraz cholesterolu nie będącego frakcją HDL (*non-HDL*) koreluje z spadkiem zachorowalności na krwotok śródmózgowy (OR=0,62; 95%CI: 0,42 - 0,92) podczas, gdy wzrost stężenia frakcji HDL cholesterolu zwiększa ryzyko krwotoku śródmózgowego (OR=1,91; 95%CI: 1,29 - 283) (O'Donnell i wsp., 2010).

Z uwagi na rolę genu apolipoproteiny E (*APOE*) w procesie odkładania amyloidu w patogenezie choroby Alzheimera, analizowano też związek pomiędzy allelami *APOE* a angiopatią amyloidową naczyń mózgowych (CAA, ang. *cerebral amyloid angiopathy*) będącą jedną z istotnych przyczyn płatowych krwotoków śródmózgowych. Duża metaanaliza 55 kliniczno-kontrolnych badań genetycznych obejmująca 6 359 chorych (analizowano razem pacjentów z pierwotnym krwotokiem śródmózgowym, krwotokiem podpajęczynówkowym i pękniętym tętniakiem tętnic mózgowych) oraz 13 805 osób z grup kontrolnych z 2008 roku wykazała, że allele $\epsilon 2$ i $\epsilon 4$ zwiększają ryzyko krwotoku śródmózgowego płatowego (Peck i wsp., 2008). Opublikowane w 2010 roku wielkoskalowe badanie genetyczne (ang. *large-scale genetic association study*) obejmujące 2 189 chorych oraz 4 041 osób z grup kontrolnych, potwierdziło powyższe wyniki oraz wykazało, że efekt ten jest znacznie silniejszy dla krwotoków śródmózgowych z rozpoznaną lub prawdopodobną angiopatią amyloidową naczyń mózgowych. Ponadto wykazano, że allel $\epsilon 4$ jest czynnikiem ryzyka także dla głębokich krwotoków śródmózgowych (Biffi i wsp., 2010).

Kolejnym zagadnieniem branym pod uwagę jako czynnik ryzyka krwotoków śródmózgowych, jest obecność w badaniach obrazowych mózgu wykonywanych metodą rezonansu magnetycznego (MRI, ang. *magnetic resonance imaging*) drobnych, asymptomatycznych krwawień mózgowych, tak zwanych mikrokrwotoków (CBMs, ang. *cerebral microbleeds*). Są one jedną z manifestacji (tzw. fenotypem pośrednim) choroby małych naczyń mózgu, a ich częstość występowania rośnie znacząco wraz z wiekiem. W *the Rotterdam Scan Study* wykazano, że występują one u około 40% osób powyżej 80 roku życia oraz, że mogą być potencjalnym wskaźnikiem obecności zarówno angiopatii amyloidowej, jak i angiopatii w przebiegu nadciśnienia tętniczego (Poels i wsp., 2011). Ostatnie badania wykazały też związek pomiędzy mikrokrwotokami a krwotokiem śródmózgowym płatowym oraz obecnością angiopatii amyloidowej naczyń mózgowych (van Etten i wsp., 2014), a także krwotokiem śródmózgowym zlokalizowanym podkorowo (Marsh i wsp., 2014).

Czynnikiem bezwzględnie zwiększającym zapadalność na krwotok śródmózgowy jest z pewnością przewlekłe leczenie przeciwzakrzepowe, w tym zarówno doustne leczenie przeciwkrzepliwe, jak i leczenie przeciwpytkowe (He i wsp., 1998; Flaherty i wsp., 2007; Huhtakangas i wsp., 2011; Howard i wsp., 2013). Roczna częstość występowania krwotoku

śródmózgowego wśród osób stosujących leczenie przeciwplatekcyjne wynosi od 0,02% do 0,47%, zaś wśród osób stosujących doustne leczenie przeciwkrzepliwie: od 0,3% do 0,6% (Buresly i wsp., 2005; Chimowitz i wsp., 2005; Toyoda i wsp., 2008). Metaanaliza sześciu badań, w których łącznie wzięło udział ponad 4 tysiące pacjentów z migotaniem przedsionków wykazała, że stosowanie warfaryny zwiększa prawie dwukrotnie ryzyko krwawienia w porównaniu z lekami przeciwplatekowymi (van Walraven i wsp., 2002). W innym wielośrodkowym badaniu obejmującym 870 chorych, stwierdzono ponadto, że krwotok śródmózgowy w następstwie leczenia przeciwplatekowego występuje częściej u osób starszych i z nadciśnieniem tętniczym. Z kolei krwotok śródmózgowy związany z doustnym leczeniem przeciwkrzepliwym częściej występuje w lokalizacji płatowej. Ponadto z lokalizacją płatową krwotoku dodatnio koreluje też podniesiona wartość wskaźnika czasu protrombinowego (Pezzini i wsp., 2014).

1.3. Genetyczne czynniki ryzyka krwotoku śródmózgowego – geny związane z układem krzepnięcia i procesem zapalnym

Zaburzenia w układzie krzepnięcia w sposób naturalny są postrzegane jako związane zarówno z ryzykiem wystąpienia, jak i z ciężkością przebiegu krwotoku śródmózgowego. Dotychczas opublikowane prace wykazały przede wszystkim wpływ zaburzeń hemostazy na ekspansję krwotoku śródmózgowego (del Zoppo i Mori, 1992; Fujii i wsp., 1994; Emiru i wsp., 2013). Nieco mniej wiadomo o związku pomiędzy nieprawidłowościami funkcjonowania układu krzepnięcia a samym ryzykiem krwawienia śródmózgowego (Maas i wsp., 2013). Za istnieniem takiej zależności przemawia między innymi: znamienne wyższe ryzyko krwotoków u pacjentów z mikrokrwotokami mózgowymi, którzy przebyli leczenie trombolityczne lub przewlekle przyjmowali doustne leki przeciwkrzepliwie (Fiehler i wsp., 2007; Lee i wsp., 2009; Ghelmez i wsp., 2013; Dannenberg i wsp., 2014). Podobny efekt opisano dla nawracających płatowych krwotoków śródmózgowych u pacjentów z mikrokrwotokami, którzy zażywali leki przeciwplatekcyjne (Biffi i wsp., 2010). Doniesienia te stały się podstawą hipotezy, że objawowy krwotok śródmózgowy jest wynikiem ewolucji z niewielkiego i lokalnie ograniczonego krwawienia, na którą wpływ ma zaburzenie równowagi pomiędzy układem lizy a układem krzepnięcia. Za tą koncepcją przemawia między innymi

znamiennie częstsze występowanie asymptomatycznych mózgowych mikrokrwotoków w populacji osób, które później przebyły pierwotny krwotok śródmózgowy (van Etten i wsp., 2014).

Istotny wpływ na ewolucję mikrokrwawienia mózgowego do objawowego krwotoku śródmózgowego wydaje się mieć zaburzenie równowagi pomiędzy procesem generacji skrzepu fibrynowego, a fizjologicznie pozostającym z nim w równowadze, procesem jego lizy. Znajduje to odzwierciedlenie na przykład w zmianie parametrów skrzepu fibrynowego w przebiegu krwotoku śródmózgowego (obniżony współczynnik przepuszczalności, który odzwierciedla zwiększoną grubość włókien fibrynowych oraz wydłużony czas lizy skrzepu, który nawiązuje do jego oporności na działanie enzymów trawiących usieciowane włókna) (Pera i wsp., 2012).

Proces tworzenia skrzepu fibrynowego rozpoczyna się pod wpływem działania trombiny na fibrynogen. Co istotne, fibrynogen jest białkiem heterogennym. Jest to związane między innymi z: genetyczną zmiennością, procesami proteolizy, alternatywnego składania transkryptu (ang. *splicing*) oraz końcowej modyfikacji białka w postaci fosforylacji i sulfonowania. Produktami działania trombiny na fibrynogen są fibrynopeptydy oznaczane jako A oraz B (odpowiednio Fp(A) i Fp(B)). Agregują one do ścian śródbłonna naczyniowego łącząc się w sieć, której końcowe właściwości mechaniczne zależą przede wszystkim od stopnia usieciowania włókien na poziomie molekularnym, a także od proporcji wzajemnego połączenia peptydów. Ostatnim kluczowym etapem formowania się skrzepu fibrynowego jest tworzenie krzyżowych wiązań między jego włóknami przez aktywowany czynnik XIII, które poprawiają właściwości elastyczne oraz zwiększają oporność skrzepu na fibrylizę (Undas i wsp., 2011).

W licznych pracach udowodniono, że właściwości skrzepu fibrynowego zmieniają się pod wpływem leczenia przeciwzakrzepowego. Acetylacja fibryny, która ma miejsce podczas leczenia kwasem acetylosalicylowym, powoduje zwiększenie przepuszczalności skrzepu fibrynowego zwiększając tym samym jego podatność na lizę oraz oporność na działanie czynnika XIII (Bjornsson i wsp., 1989; Undas i wsp., 2003; Ajjan i wsp., 2009). Podobnie dzieje się w przypadku stosowania leków przeciwkrzepliwych, które zwiększają zarówno przepuszczalność skrzepu oraz, poprzez hamowanie trombiny, powodują wzrost podatności

skrzepu na fibrylizę (Blombäck i wsp., 2011). Zważywszy, że leki przeciwzakrzepowe w sposób istotny zwiększają ryzyko zachorowania na krwotok śródmózgowy, obserwacja ta przemawia za możliwą rolą skrzepu fibrynowego w rozwoju pierwotnego krwotoku śródmózgowego.

Struktura skrzepu fibrynowego w dużej mierze jest warunkowana przez czynniki genetyczne. W przypadku niektórych wariantów genów ich wpływ na właściwości struktury skrzepu został już udowodniony. Na przykład występowanie wariantu białka z alaniną w pozycji 312 łańcucha alfa zamiast treoniny prowadzi do powstania włókien skrzepu o większej średnicy poprzez zwiększenie ilości wiązań krzyżowych (Standeven i wsp., 2003). Wykazano także związek pomiędzy polimorfizmem genu *FGB* Arg448Lys a przepuszczalnością skrzepu, grubością jego włókien i opornością na lizę (Lim i wsp., 2003; Ajjan i wsp., 2008). Z kolei polimorfizm *FGB* -455 G>A istotnie wpływa na stężenie fibrynogenu, ale jego znaczenie dla właściwości skrzepu fibrynowego jest dyskusyjne i nie zostało, jak dotąd, jednoznacznie określone (Maghzal i wsp., 2003).

Oprócz polimorfizmów genów łańcuchów fibrynogenu, także polimorfizmy genu kodującego czynnik XIII *F13A1* wpływają na niektóre właściwości i strukturę skrzepu fibrynowego. W największym stopniu dotyczy to polimorfizmu *F13A1* Val34Leu, znajdującego się w bezpośrednim sąsiedztwie miejsca rozszczepienia podjednostki A białka przez trombinę. Białko o zmienionej strukturze posiada znacznie większą aktywność, co skutkuje wzrostem grubości włókien skrzepu fibrynowego i spadkiem jego oporności na lizę, a w aspekcie klinicznym - zwiększeniem skłonności do krwawienia (Bagoly i wsp., 2012).

Na temat wpływu powyższych wariantów genetycznych na ryzyko pierwotnego krwotoku śródmózgowego wiadomo stosunkowo niewiele. W populacji polskiej wykazano związek pomiędzy polimorfizmem *FGA* Thr312Ala a głębokim pierwotnym krwotokiem śródmózgowym (Jagieła i wsp., 2014). Natomiast dane dotyczące polimorfizmu Val34Leu czynnika XIII są niejednoznaczne. W badaniu z 1998 roku (na niewielkiej grupie chorych, n=62) stwierdzono zależność pomiędzy tym polimorfizmem a pierwotnym krwotokiem śródmózgowym (Catto i wsp., 1998). Jednak późniejsze większe badanie obejmujące 94 pacjentów i 369 osób w grupie kontrolnej (Endler i wsp., 2003) nie potwierdziło tej zależności. Ostatnio wykazano korelację pomiędzy polimorfizmem Val34Leu czynnika XIII a

zapadalnością wśród mężczyzn na krwotok śródmózgowy o śmiertelnym przebiegu (n=98) (Antalfi i wsp., 2013).

Innym czynnikiem, który wydaje się wpływać na zapadalność na pierwotny krwotok śródmózgowy, jest proces zapalny. Jego rola w rozwoju krwotoku śródmózgowego jest złożona. Z jednej strony, zapalenie ma istotny wpływ na formowanie się i właściwości skrzepu fibrynowego, z drugiej zaś, jest kluczowym elementem mechanizmu uszkodzenia ściany (czy to w przebiegu angiopatii nadciśnieniowej, czy też angiopatii amyloidowej, czyli kluczowych procesów dla patofizjologii krwotoku śródmózgowego).

Białkiem, którego stężenie w osoczu bardzo dobrze koreluje z nasileniem systemowej odpowiedzi zapalnej jest białko C-reaktywne (CRP). Między innymi z tego powodu w dotychczasowych pracach analizowano głównie wpływ jego stężenia na strukturę skrzepu fibrynowego. Zgromadzone dane dowodzą, że w stanach zapalnych zachodzą zmiany w strukturze skrzepu fibrynowego, które nadają mu bardziej prozakrzepowy charakter (Undas i wsp., 2009; Kwasny-Krochin i wsp., 2010; Owczarek i wsp., 2013). Na podłożu molekularnym tłumaczy się ten proces przede wszystkim specyficznym wiązaniem CRP z fibryną oraz fibrynogenem (Salonen i wsp., 1984). Ponadto, proces zapalny jest kluczowym komponentem rozwoju angiopatii małych naczyń mózgowych, w tym zarówno procesu przebudowy miażdżycowej, jak i reakcji zakrzepowych (Shishehbor i wsp., 2004).

Proces zapalny odgrywa także istotną rolę w etiopatogenezie najważniejszego czynnika ryzyka pierwotnego krwotoku śródmózgowego, jakim jest nadciśnienie tętnicze. W miarę pogłębiania wiedzy na temat patomechanizmów rozwoju nadciśnienia tętniczego, coraz bardziej oczywistym jest w nim udział stanu zapalnego (Harrison i wsp., 2011). Liczne badania wykazały związek pomiędzy podwyższonym stężeniem CRP w osoczu a nadciśnieniem tętniczym (Bautista, 2003, King i wsp., 2004). Wzrost stężenia CRP we krwi, oprócz oczywiście infekcji, jest warunkowany przez wiele czynników takich, jak: wiek, płeć, otyłość czy insulinooporność (Kushner i wsp., 2006). Niemniej jednak prawie połowa zmienności stężenia CRP jest przypisywana istnieniu różnych wariantów genu *CRP* (Pankow i wsp., 2001). Wśród licznych polimorfizmów pojedynczych nukleotydów, szczególny związek ze stężeniem tego białka wykazuje polimorfizm *CRP* +1444C>T (Brull i wsp., 2003). Jego znaczenie zostało udowodnione dla wielu procesów chorobowych przebiegających z

uszkodzeniem ścian naczyń, w tym w rozwoju zmian miażdżycowych w dużych (Liu i wsp., 2009; Pessi i wsp., 2009) i małych naczyniach tętniczych (Cheung i wsp., 2008), występowaniu zawału mięśnia sercowego (Zacho i wsp., 2008) oraz odpowiedzi na stan zapalny mediowanej przez CRP (D'Aiuto i wsp., 2005).

Jeżeli chodzi o pierwotny krwotok śródmózgowy, to w jedynym europejskim badaniu Anderssona liczącym 61 pacjentów i 122 osoby w grupie kontrolnej nie wykazano związku pomiędzy polimorfizmem *CRP* +1444 C>T a żadnym z typów udaru mózgu (2009). Z kolei w opublikowanym badaniu obejmującym 220 chorych i 464 osoby w grupie kontrolnej z chińskiej populacji Han było analizowane znaczenie czterech innych polimorfizmów w obrębie genu *CRP* (-757A>G, -717A>G, -286 C>T>A, +2147C>T). Wynik badania był negatywny (Wang i wsp., 2009).

Inną cząsteczką związaną ze stanem zapalnym, która z jednej strony jest zaangażowana w kontrolę ekspresji genu *CRP*, ale także uczestniczy w reakcjach stanu zapalnego przebiegającego lokalnie w ścianach naczyń, jest interleukina 6 (IL-6) (Volanakis i wsp., 2001). Wpływa ona między innymi na: funkcjonowanie śródbłonna naczyń, równowagę czynników skurczowych i rozkurczowych ścian naczyniowych, wzrost napięcia komórek mięśniowych ścian naczyń a w efekcie - wzrost ciśnienia tętniczego krwi (Sprague i wsp., 2009). Ponadto, krążąca IL-6 może stymulować oś podwzgórze - przysadka - nadnercza, której aktywacja gra istotną rolę w rozwoju nadciśnienia tętniczego (Yudkin i wsp., 2000). W badaniach klinicznych wykazano pozytywną korelację pomiędzy wzrostem stężenia IL-6 a zespołem metabolicznym (Yudkin i wsp., 1999) oraz wartością skurczowego i rozkurczowego ciśnienia tętniczego krwi (Bermudez i wsp., 2002).

Aktywność IL-6 jest w dużym stopniu uwarunkowana genetycznie. Z analizowanych dotychczas polimorfizmów największy związek z ekspresją genu *IL6* wydaje się mieć polimorfizm -174G>C (Terry i wsp., 2000). Chociaż jego wpływ na samo stężenie IL-6 pozostaje wciąż dyskusyjny (Endler i wsp., 2004), to jednak w sposób wyraźny polimorfizm ten koreluje z innymi mediatorami stanu zapalnego (Illig i wsp., 2004).

Z uwagi na udowodniony związek z wieloma schorzeniami o charakterze zapalnym takimi, jak: młodzieńcze reumatoidalne zapalenie stawów, choroba Leśniiewskiego-Crohna czy

otyłość w cukrzycy typu drugiego (Ogilvie i wsp., 2003; Sagiv-Friedgut i wsp., 2010; Popko i wsp., 2010; Underwod i wsp. 2012; Yang i wsp., 2014; de Oliveira i wsp., 2015), powyższy polimorfizm był również analizowany w chorobach naczyniowych mózgu, w tym w pierwotnym krwotoku śródmózgowym. Między innymi wykazano związek tego polimorfizmu z krwotokiem śródmózgowym z malformacji tętniczo-żylnych (Pawlikowska i wsp., 2004). Stwierdzono, że u pacjentów z malformacją tętniczo-żylną, u których doszło do krwawienia, genotyp GG polimorfizmu *IL6* -174G>C koreluje z wyższym stężeniem mRNA i białka IL-6 w komórkach śródbłonna naczyniowego pochodzącego z malformacji (Chen i wsp., 2006).

W jedynym opublikowanym do tej pory badaniu analizującym związek polimorfizmu *IL6* -174 G>C z pierwotnym krwotokiem śródmózgowym, nie wykazano wpływu badanego polimorfizmu na ryzyko zachorowania (Strand i wsp., 2007). Badanie to jednak było poświęcone udarom mózgu w ogóle, a grupa chorych z krwotokiem śródmózgowym była niewielka - liczyła 61 osób. Natomiast inny funkcjonalny polimorfizm tego genu (-572G>C) okazał się być istotnym czynnikiem ryzyka krwotoku śródmózgowego w populacji japońskiej (Yamada i wsp. 2006). Na temat jego roli w populacji europejskiej nie ma żadnych danych.

2. Cele badania

Głównym celem niniejszej pracy była odpowiedź na pytanie o związek pomiędzy wybranymi polimorfizmami genów czynników krzepnięcia i mediatorów stanu zapalnego, a ryzykiem pierwotnego krwotoku śródmózgowego w dwóch populacjach europejskich.

W szczególności zaś celami badania były:

- analiza związku pomiędzy polimorfizmem *FGB* -455G>A a ryzykiem zachorowania na pierwotny krwotok śródmózgowy, w zależności od lokalizacji płatowej bądź głębokiej;
- analiza związku pomiędzy polimorfizmem *F13A1* Val34Leu (G>T) a ryzykiem zachorowania na pierwotny krwotok śródmózgowy, w zależności od lokalizacji płatowej bądź głębokiej;
- analiza związku pomiędzy polimorfizmem *CRP* +1444C>T a ryzykiem zachorowania na pierwotny krwotok śródmózgowy, w zależności od lokalizacji płatowej bądź głębokiej;
- analiza związku pomiędzy polimorfizmem *IL6* -174G>C a ryzykiem zachorowania na pierwotny krwotok śródmózgowy, w zależności od lokalizacji płatowej bądź głębokiej.

W każdym przypadku badano też wpływ innych czynników ryzyka krwotoku śródmózgowego na powyższe relacje.

3. Uczestnicy i metody

3.1. Uczestnicy badania

Badanie zostało przeprowadzone równolegle w dwóch europejskich populacjach: polskiej i greckiej.

Grupa polska

Do **grupy badanej** rekrutowano kolejnych pacjentów Oddziału Udarowego Kliniki Neurologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie, leczonych w latach 1999-2009, z rozpoznaniem pierwotnego krwotoku śródmózgowego. W sumie badanie objęło 257 chorych.

Kryteria włączenia:

- rozpoznanie pierwotnego krwotoku śródmózgowego na podstawie definicji udaru WHO (Hatano i wsp., 1976), wyniku tomografii komputerowej (TK) głowy oraz badania obrazującego naczynia mózgowe (Kendall i wsp., 1978):

- 1) angiotomografii komputerowej (angio-TK) lub
- 2) angiorezonansu magnetycznego (angio-RM), lub
- 3) cyfrowej angiografii subtrakcyjnej (DSA, ang. *digital subtraction angiography*)

- zgoda na udział w badaniu.

Kryteria wykluczenia:

- malformacja naczyniowa
- choroba nowotworowa
- uraz głowy
- koagulopatia
- zapalenie naczyń
- wtórne ukrwotoczenie udaru niedokrwiennego

- użycie sympatykomimetyków.

Grupę kontrolną stanowiły osoby bez udaru w wywiadzie, rekrutowane spośród zdrowych ochotników, w tym: niespokrewnionych odwiedzających pacjentów leczonych w Oddziale Udarowym, pacjentów i rodzin innych Oddziałów i Poradni Przyklinicznych Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie, u których wykluczono schorzenia neurologiczne. Do badania włączono tylko osoby, które wyraziły zgodę na udział w badaniu. W sumie w skład grupy kontrolnej weszły 442 osoby.

Kryteria wykluczenia stanowiły: choroby naczyniowe mózgu, zdiagnozowane otępienie lub choroba neurozwyrodnieniowa.

Rekrutując osoby do polskiej grupy kontrolnej kierowano się zaleceniami stosowanymi podczas badań genetycznych kliniczno-kontrolnych (*Case-Control Study*) prowadzonych przez Konsorcjum Wellcome Trust przy Instytucie Sangera (*Wellcome Trust Case Control Consortium*, 2007). Zalecenia te są podstawą badań prowadzonych obecnie przez Międzynarodowe Konsorcjum Genetyki Udaru Mózgu (*International Stroke Genetics Consortium*).

Grupa grecka (współpraca z zespołem Hadjigeriou G.M., Szpital Uniwersytecki w Larissie)

Do **grupy badanej** rekrutowano kolejnych pacjentów Szpitala Uniwersyteckiego w Larissie, w środkowej Grecji, leczonych w latach 2003-2009, z rozpoznaniem pierwotnego krwotoku śródmózgowego. W sumie badanie objęło 250 chorych.

Kryteria włączenia do badania oraz kryteria wykluczenia były takie same jak w grupie polskiej.

Grupę kontrolną stanowiło 250 zdrowych osób pochodzących z tego samego regionu geograficznego Grecji co zrekrutowani do badania pacjenci szpitala.

W populacji greckiej osoby z grupy kontrolnej zostały dobrane pod względem płci i wieku do osób z krwotokiem śródmózgowym, po wykluczeniu chorób neurologicznych, zwłaszcza chorób naczyniowych mózgu (Dardiotis i wsp., 2008; Dardiotis i wsp., 2011). Pozostałe kryteria wykluczenia były takie same jak w grupie polskiej.

Polska część badania była prowadzona w ramach projektu „Genetyka molekularna chorób układu nerwowego związanych z wiekiem – bank materiału genetycznego” posiadającego zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego (opinia nr KBET/54/B2007). Grecka część badania została zaakceptowana przez Uniwersytecką Komisję Badawczą Szpitala Uniwersyteckiego w Larissie.

Każda osoba przed włączeniem do badania wyraziła pisemną zgodę na udział w badaniu oraz pobranie krwi żyłnej celem analizy materiału genetycznego w kierunku czynników ryzyka pierwotnego krwotoku śródmózgowego.

3.2. Metody

3.2.1. Kwestionariusz danych

Na temat każdego pacjenta z krwotokiem śródmózgowym, za pomocą kwestionariusza standardowo używanego w Oddziale Udarowym, zbierano następujące informacje: dane demograficzne (wiek, płeć), czas i okoliczności zachorowania, czas przyjęcia do szpitala, dane o naczyniowych czynnikach ryzyka, chorobach współistniejących oraz wywiad rodzinny. Zbierano też informacje na temat przebiegu choroby i stopnia niepełnosprawności pacjenta w dniu wypisu ze szpitala (stosowano zmodyfikowaną skalę Rankina, mRS - załącznik nr 1 oraz Skalę Glasgow Wyników Końcowych, GOS - załącznik nr 2, (Rankin i wsp., 1957; Swieten i wsp., 1988; Sulter i wsp., 1999; Jennett B., 1975)). Oceniano także lokalizację krwotoku śródmózgowego.

W przypadku każdego uczestnika z grupy kontrolnej odnotowano dane demograficzne, informacje na temat współistniejących chorób przewlekłych oraz obecności naczyniowych czynników ryzyka. Uzyskane informacje były wprowadzane do utworzonej elektronicznej bazy danych.

3.2.2. Czynniki ryzyka

Nadciśnienie tętnicze definiowane było zgodnie z wytycznymi Europejskiego Towarzystwa Nadciśnieniowego (Mancia i wsp., *European Society of Hypertension, Guidelines 2013*) jako przekroczenie wartości skurczowego ciśnienia tętniczego krwi 140 mmHg i/lub przekroczenie wartości rozkurczowego ciśnienia tętniczego krwi 90 mmHg w dwóch niezależnych pomiarach. Jako obecne nadciśnienie tętnicze traktowano nadciśnienie rozpoznane przed zachorowaniem lub zdiagnozowane w trakcie hospitalizacji - po upływie 7 dni od zachorowania.

Choroba niedokrwienna serca była definiowana zgodnie z wytycznymi Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (Montalescot i wsp., *European Society of Cardiology, Guidelines 2013*) jako stabilne zespoły wieńcowe i rozpoznawana na podstawie objawów klinicznych albo ostre zespoły wieńcowe i diagnozowana wtedy w oparciu o objawy kliniczne, zapis elektrokardiograficzny oraz wyniki badań laboratoryjnych. Jako czynnik ryzyka traktowano chorobę niedokrwienną serca zdiagnozowaną przed zachorowaniem lub rozpoznaną podczas hospitalizacji.

Przebyty zawał mięśnia sercowego był rozpoznawany zgodnie z wytycznymi Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (Montalescot i wsp., *European Society of Cardiology, Guidelines 2013*) na podstawie wywiadu, dokumentacji medycznej oraz charakterystycznych cech w badaniu elektrokardiograficznym lub ultrasonograficznym mięśnia sercowego.

Cukrzyca była rozpoznawana zgodnie z zaleceniami Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego (PTD) na podstawie pomiarów glikemii z krwi żyłnej wykonywanych na czczo (dwukrotnie powyżej 126 mg/dl glukozy w osoczu krwi żyłnej), przygodnych (powyżej 200 mg/dl) lub po doustnym teście tolerancji glukozy (powyżej 200 mg/dl).

Migotanie przedsionków było definiowane zgodnie z zaleceniami Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (*European Society of Cardiology, 2006*) na podstawie określonych cech zapisu elektrokardiograficznego (EKG), a także, w przypadku napadowego migotania przedsionków, w rejestracji EKG metodą Holtera.

Hipercholesterolemia była rozpoznawana zgodnie z zaleceniami Polskiego Forum Profilaktyki Układu Krążenia (Polskie Forum Profilaktyki Układu Krążenia, 2012) jako stężenie cholesterolu całkowitego powyżej 5,0 mmol/l lub stężenie frakcji LDL cholesterolu powyżej 3,0 mmol/l. Rozpoznawano także hipercholesterolemię u osób z prawidłowymi wynikami, u których włączono w przeszłości leczenie statynami z powodu podwyższonego stężenia całkowitego cholesterolu lub jego frakcji LDL przed hospitalizacją z powodu krwotoku.

Otyłość była definiowana zgodnie z kryteriami Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) jako wskaźnik masy ciała (BMI) większy lub równy 30 kg/m² (WHO, 2000), gdzie BMI jest ilorazem masy ciała wyrażonej w kilogramach przez wzrost wyrażony w metrach podniesiony do drugiej potęgi.

Nikotynizm definiowano jako palenie papierosów w przeszłości (pacjenci, którzy rzucili palenie mniej niż sześć miesięcy przed zachorowaniem; osoby z grupy kontrolnej zaś mniej niż sześć miesięcy przed włączeniem do badania) lub jako aktualne palenie papierosów.

Spożywanie alkoholu było określane zgodnie z zaleceniami Polskiego Forum Profilaktyki Układu Krążenia (Polskie Forum Profilaktyki Układu Krążenia, 2012). Za czynnik ryzyka uznano regularne spożywanie więcej niż 3 jednostek alkoholu (1 jednostka – 10 g alkoholu) na tydzień.

W celu ustalenia lokalizacji i etiologii udaru krwotocznego w trakcie hospitalizacji wykonywano następujące badania diagnostyczne:

- TK głowy dla rozpoznania, oceny wielkości i lokalizacji krwotoku
- badanie naczynio-obrazujące tętnic wewnątrzczaszkowych: angio-TK, angio-RM lub DSA dla wykluczenia obecności malformacji naczyniowych
- RM głowy dla oceny wielkości i lokalizacji krwawienia, wykrycia ewentualnych malformacji naczyniowych, oceny współistnienia u chorych mikrokrwotoków mózgowych, wykluczenia zapalenia naczyń oraz zmian rozrostowych (nie wykonywany rutynowo u wszystkich chorych).

Ze względu na lokalizację pierwotnego krwotoku śródmózgowego zastosowano następujący podział:

- krwotok śródmózgowy płatowy - nadnamiotowo, na pograniczu istoty szarej i białej mózgu
- krwotok śródmózgowy głęboki - w obrębie: jąder podstawy, wzgórza, pnia mózgu lub mózdzku.

3.2.3. Analiza genetyczna

W populacji polskiej krew żylną pobraną na EDTA od pacjentów oraz osób z grupy kontrolnej zabezpieczano oraz przechowywano w Zakładzie Neurogenetyki Katedry Neurologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie. DNA izolowano z leukocytów krwi obwodowej używając komercyjnych zestawów do izolacji firmy QIAGEN® (QIAmp, Blood Mini Kit).

W populacji greckiej użyto roztworu DNA przygotowanego w Laboratorium Neurogenetyki Szpitala Uniwersyteckiego w Larissie, o zadanym stężeniu, otrzymanego metodą wysalania z leukocytów obwodowej krwi żyłnej (Dardiotis i wsp., 2011).

Analizowano 4 polimorfizmy: łańcucha beta fibrynogenu *FGB* -455G>A (rs1800790), czynnika XIII *F13A1* Val34Leu (G>T) (rs5985), białka C reaktywnego *CRP* +1444 C>T (rs1130864), interleukiny 6 *IL6* -174G>C (rs1800795).

Genotypowanie u uczestników badania wykonano przy użyciu reakcji polimerazy łańcuchowej w czasie rzeczywistym (RT-PCR, ang. *Real-Time Polymerase Chain Reaction*) aparatem TaqMan 7900 (Applied Biosystems®). Automatyczną analizę przeprowadzano używając oprogramowania firmy Applied Biosystems (SDS, ang. *Sequence Detection System*). W wątpliwych przypadkach wyniki weryfikowano używając programu TaqMan® Genotyper Software 1.0. W badaniu użyto następujących zestawów produktów firmy Applied Biosystems z serii TaqMan® SNP Genotyping Assays zawierających odpowiednio dobrane startery (Tabela 3.3.1.).

Tabela 3.3.1. Startery użyte do oznaczenia poszczególnych polimorfizmów

Polimorfizm	Oznaczenie sondy
<i>FGB</i> -455G>A (rs1800790)	C__7429790_20
<i>F13A1</i> Val34Leu (rs5985)	C__1639938_20
<i>CRP</i> +1444 C>T (rs1130864)	C__7479332_10
<i>IL6</i> -174G>C (rs1800795)	C__1839697_20

Do roztworu złożonego ze starterów oraz enzymu i jonów zawartych w Taq Man® Genotyping Master Mix dodawano przygotowany wcześniej roztwór DNA o odpowiednim stężeniu, a całość dopełniano wodą wolną od nukleaz. Tak przygotowaną mieszaninę analizowano następnie przy pomocy aparatu Taq Man® 7900 firmy Applied Biosystems według protokołu producenta.

3.2.4. Analizy statystyczne

W przypadku każdego badanego polimorfizmu, zarówno w grupie pacjentów, jak i w grupie kontrolnej, analizowano otrzymane wyniki pod kątem zachowania równowagi Hardy-Weinberga za pomocą testu χ^2 .

Rozkład poszczególnych czynników ryzyka, genotypów i alleli u chorych z krwotokiem śródmózgowym i u osób z grupy kontrolnej porównywano z wykorzystaniem testu χ^2 dla zmiennych kategorycznych. Analogiczną analizę przeprowadzono po podziale grupy chorych na pacjentów z krwotokiem płatowym i głębokim. Zmienne ciągłe w badanych grupach porównywano używając testu t-Studenta.

Wpływ poszczególnych genotypów badanych polimorfizmów na ryzyko zachorowania na pierwotny krwotok śródmózgowy, także z uwzględnieniem jego lokalizacji, analizowano w każdym przypadku kolejno w trzech modelach: dominującym, recesywnym i addytywnym. Ponadto, badano wpływ poszczególnych alleli na ryzyko pierwotnego krwotoku śródmózgowego w zależności od jego lokalizacji.

W celu weryfikacji czy badane polimorfizmy są niezależnymi czynnikami ryzyka krwotoku śródmózgowego wykonano wieloczynnikową analizę metodą regresji logistycznej uwzględniającą wiek, płeć oraz zmienne, dla których rozkład był znamienne różny w populacji chorych z udarem krwotocznym i osób z grupy kontrolnej ($p < 0,05$).

Powyższe analizy były wykonywane przy pomocy oprogramowania „Statistica” (wersja 9) oraz „SAS Genetics” (wersja 12.3). Za poziom znamienności statystycznej przyjęto $p < 0,05$.

4. Wyniki

4.1. Charakterystyka demograficzna i profil czynników ryzyka u chorych na pierwotny krwotok śródmózgowy i u osób z grupy kontrolnej w populacjach: polskiej i greckiej

W *grupie polskiej* do badania włączono 257 chorych na pierwotny krwotok śródmózgowy oraz 442 osoby wchodzące w skład grupy kontrolnej. Po powtórzeniu niepewnych wyników genotypowania uzyskano od 236 do 255 oznaczeń genotypów w grupie pacjentów oraz od 313 do 441 w grupie kontrolnej, w zależności od badanego polimorfizmu. Z powodów metodologicznych nie wykonano oznaczeń wszystkich czterech polimorfizmów u niektórych uczestników badania. Liczebność grup dla poszczególnych genotypów przedstawiono w tabelach: 4.2.1., 4.3.1., 4.4.1., 4.5.1. Wiek chorych wynosił: 25 - 95 lat (średnia wieku \pm SD: $64,77 \pm 13,94$ lat), zaś wiek w grupie kontrolnej wynosił 18 - 94 lat (średnia wieku \pm SD: $60,74 \pm 15,71$ lat). W grupie chorych na pierwotny krwotok śródmózgowy były 124 kobiety (48,2%), a w grupie kontrolnej było 236 kobiet (53,4%). Następnie dokonano podziału grupy chorych z pierwotnym krwotokiem śródmózgowym ze względu na lokalizację: głęboką oraz płatową. Grupa osób z krwotokiem głębokim liczyła 154 osoby w wieku 32 - 90 lat (średnia wieku \pm SD: $62,64 \pm 13,25$ lat; 75 kobiet (48,7%)). Grupa chorych z krwotokiem płatowym liczyła 103 osoby w wieku 25 - 95 lat (średnia wieku \pm SD: $67,96 \pm 14,40$ lat; 49 kobiet (47,6%)).

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pod względem rozkładu płci między grupą kontrolną a chorymi z pierwotnym krwotokiem śródmózgowym, także biorąc pod uwagę lokalizację krwotoku. Natomiast grupa wszystkich osób z krwotokiem, jak i grupy osób chorych na krwotok śródmózgowy zlokalizowany głęboko albo płatowo, były znamienne starsze od grupy kontrolnej. Analizując profil czynników ryzyka u osób badanych stwierdzono, że wśród chorych z pierwotnym krwotokiem śródmózgowym znamienne częściej występowały: nadciśnienie tętnicze, cukrzyca oraz palenie papierosów. Ocena profilu czynników ryzyka przeprowadzona oddzielnie dla lokalizacji głębokiej i płatowej wykazała, że wśród chorych z krwotokiem głębokim w porównaniu z grupą kontrolną częściej występowały: nadciśnienie tętnicze, cukrzyca oraz palenie papierosów, zaś wśród chorych z krwotokiem płatowym: nadciśnienie tętnicze i palenie papierosów (Tabela: 4.1.1.).

Tabela 4.1.1. Profil czynników ryzyka u chorych na pierwotny krwotok śródmożgowy oraz w grupie kontrolnej w populacji polskiej

	Chorzy z krwotokiem śródmożgowym n=257	Chorzy z krwotokiem głębokim n=154	Chorzy z krwotokiem płatowym n=103	Grupa kontrolna n=442	Chorzy z krwotokiem vs grupa kontrolna p	Chorzy z krwotokiem głębokim vs grupa kontrolna p	Chorzy z krwotokiem płatowym vs grupa kontrolna P
Nadciśnienie tętnicze (%)	79	87	67	45	<0,01	<0,01	<0,01
Cukrzyca (%)	18	19	16	10	0,02	<0,01	0,41
Palenie papierosów (%)	25	25	24	20	<0,01	0,03	0,02
Nadużywanie alkoholu (%)	11	12	11	7	0,09	0,11	0,28
Hipercholesterolemia (%)	37	40	32	29	0,32	0,08	0,73
Choroba niedokrwienna serca (%)	30	28	34	26	0,96	0,93	0,93
Otyłość (%)	22	23	20	22	0,9	0,89	0,69

W **grupie greckiej** do badania włączono 250 chorych na pierwotny krwotok śródmózgowy oraz 250 osób stanowiących grupę kontrolną. Po powtórzeniu wątpliwych wyników uzyskano od 216 do 246 oznaczeń genotypów w grupie pacjentów z pierwotnym krwotokiem śródmózgowym oraz od 198 do 249 w grupie kontrolnej, w zależności od badanego polimorfizmu. Podobnie, jak w populacji polskiej, z powodów metodologicznych nie udało się oznaczyć wszystkich polimorfizmów u niektórych badanych. Liczebność grup dla poszczególnych genotypów przedstawiono w tabelach: 4.2.2., 4.3.2., 4.4.2., 4.5.2.

Wiek chorych wynosił: 23 - 91 lat (średnia wieku \pm SD: 64,11 \pm 13,02 lat), zaś wiek w grupie kontrolnej wynosił 27 - 92 lat (średnia wieku \pm SD: 64,02 \pm 12,75 lat). W grupie chorych było 91 kobiet (36,4%), a w grupie kontrolnej - 87 kobiet (34,8%).

Następnie dokonano podziału grupy chorych ze względu na lokalizację krwotoku. Grupa osób z krwotokiem głębokim liczyła 167 osoby w wieku 25 - 88 lat (średnia wieku \pm SD: 64,07 \pm 13,04 lat; 62 kobiety (37,1%)). Grupa chorych z krwotokiem płatowym liczyła 83 osoby w wieku 23 - 91 lat (średnia wieku \pm SD: 64,20 \pm 13,07 lat, 29 kobiet (34,9%)).

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pod względem rozkładu wieku i płci między grupą kontrolną a chorymi z pierwotnym krwotokiem śródmózgowym, także po wzięciu pod uwagę lokalizacji krwotoku.

Analogicznie, jak w populacji polskiej, poddano analizie profil czynników ryzyka u pacjentów z pierwotnym krwotokiem śródmózgowym oraz u osób z grupy kontrolnej. Wśród chorych statystycznie częściej występowały: nadciśnienie tętnicze oraz palenie papierosów. Po przeanalizowaniu profilu czynników ryzyka oddzielnie dla lokalizacji głębokiej i płatowej stwierdzono, że wśród chorych z krwotokiem głębokim w porównaniu z grupą kontrolną częściej występowało nadciśnienie tętnicze, zaś wśród chorych z krwotokiem płatowym: nadciśnienie tętnicze i palenie papierosów (Tabela 4.1.2).

Tabela 4.1.2. Profil rozkładu czynników ryzyka u chorych na pierwotny krwotok śródmózgowy oraz w grupie kontrolnej w populacji greckiej

	Chorzy z krwotokiem śródmózgowym n=250	Chorzy z krwotokiem głębokim n=167	Chorzy z krwotokiem płatowym n=83	Grupa kontrolna n=250	Chorzy z krwotokiem vs grupa kontrolna p	Chorzy z krwotokiem głębokim vs grupa kontrolna p	Chorzy z krwotokiem płatowym vs grupa kontrolna p
Nadciśnienie tętnicze (%)	80	86	67	45	<0,01	<0,01	<0,01
Cukrzyca (%)	13	14	10	14	0,71	0,88	0,3
Palenie papierosów (%)	23	22	27	15	0,02	0,07	0,02
Nadużywanie alkoholu (%)	29	32	23	25	0,28	0,11	0,73
Hipercholesterolemia (%)	33	35	30	31	0,56	0,41	0,91
Choroba niedokrwienna serca (%)	12	12	13	13	0,88	0,78	0,91

4.2. Polimorfizm *FGB* -455G>A (rs1800790) a ryzyko zachorowania na pierwotny krwotok śródmózgowy

Rozkład liczbowy i procentowy genotypów oraz alleli polimorfizmu *FGB* -455G>A w populacji polskiej z uwzględnieniem lokalizacji pierwotnego krwotoku śródmózgowego przedstawia Tabela 4.2.1.

Tabela 4.2.1. Rozkład genotypów i alleli polimorfizmu *FGB* -455G>A (rs1800790) w populacji polskiej

		Chorzy z krwotokiem śródmózgowym n=236	Chorzy z krwotokiem głębokim n=140	Chorzy z krwotokiem płatowym n=96	Grupa kontrolna n=344
Genotypy, n (%)	AA	27 (11,4%)	18 (12,9%)	9 (9,4%)	36 (10,5%)
	AG	98 (41,5%)	64 (45,7%)	34 (35,4%)	117 (34,0%)
	GG	111 (47,0%)	58 (41,4%)	53 (55,2%)	191 (55,5%)
Allele, n (%)	A	152 (32,2%)	100 (35,7%)	52 (27,1%)	189 (27,5%)
	G	320 (67,8%)	180 (64,3%)	140 (72,9%)	499 (72,5%)

Rozkład liczbowy i procentowy genotypów oraz alleli polimorfizmu *FGB* -455G>A w populacji greckiej z uwzględnieniem lokalizacji pierwotnego krwotoku śródmózgowego przedstawia Tabela 4.2.2.

Tabela 4.2.2. Rozkład genotypów i alleli polimorfizmu *FGB* -455G>A (rs1800790) w populacji greckiej

		Chorzy z krwotokiem śródmózgowym n=216	Chorzy z krwotokiem głębokim n=144	Chorzy z krwotokiem płatowym n=72	Grupa kontrolna n=198
Genotypy, n (%)	AA	16 (7,4%)	10 (6,9%)	6 (8,3%)	22 (11,1%)
	AG	82 (38,0%)	57 (39,6%)	25 (34,7%)	66 (33,3%)
	GG	118 (54,6%)	77 (53,5%)	41 (56,9%)	110 (55,6%)
Allele, n (%)	A	114 (26,4%)	77 (26,7%)	37 (25,7%)	110 (27,8%)
	G	318 (73,6%)	211 (73,3%)	107 (74,3%)	286 (72,2%)

Analiza jednoczynnikowa wykazała, że w populacji polskiej genotyp AA polimorfizmu *FGB* -455G>A jest związany ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na krwotok śródmózgowy w ogóle w modelu dominującym (Tabela 4.2.3.). Natomiast w analizie wieloczynnikowej uwzględniającej: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, cukrzycę oraz palenie papierosów nie wykazano takiej zależności. Ponadto, w analizie jednoczynnikowej przeprowadzonej w populacji polskiej stwierdzono, że genotyp AA jest czynnikiem ryzyka głębokiego krwotoku śródmózgowego w modelu dominującym oraz addytywnym (Tabela 4.2.4). Podobnie, analiza jednoczynnikowa wykazała, że allel A jest czynnikiem ryzyka głębokiego krwotoku śródmózgowego (Tabela 4.2.4.). Analiza wieloczynnikowa z uwzględnieniem: wieku, płci, nadciśnienia tętniczego, cukrzycy oraz palenia papierosów nie potwierdziła powyższych zależności. Dla płatowego krwotoku śródmózgowego nie wykazano zależności pomiędzy ryzykiem zachorowania a badanym polimorfizmem (Tabela 4.2.5.).

Tabela 4.2.3. Polimorfizm *FGB* -455G>A (rs1800790) a ryzyko krwotoku śródmózgowego w populacji polskiej

	Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
	OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy	<i>Model dominujący</i>			
AA+AG vs GG	1,4 (1,0-2,0)	0,04	1,4 (0,9-2,0)	0,11
	<i>Model recesywny</i>			
AA vs AG+GG	1,1 (0,6-1,9)	0,71	1,1 (0,6-2,1)	0,74
	<i>Model addytywny</i>			
AA vs AG vs GG	1,2 (0,9-1,6)	0,09	1,2 (0,9-1,6)	0,19
Allele				
A vs G	1,3 (1,0-1,62)	0,08	1,4 (0,8-2,3)	0,23

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, cukrzycę, palenie papierosów

Tabela 4.2.4. Polimorfizm *FGB* -455G>A (rs1800790) a ryzyko krwotoku śródmożgowego głębokiego w populacji polskiej

		Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
		OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy	<i>Model dominujący</i>				
	AA+AG vs GG	1,8 (1,2-2,8)	<0,01	1,5 (0,9-2,4)	0,09
	<i>Model recesywny</i>				
	AA vs AG+GG	1,3 (0,7-2,3)	0,45	1,3 (0,6-2,7)	0,48
	<i>Model addytywny</i>				
	AA vs AG vs GG	1,4 (1,1-1,9)	0,01	1,3 (0,9-1,9)	0,12
Allele					
	A vs G	1,5 (1,1-2,0)	0,01	1,7 (0,9-3,3)	0,09

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, cukrzycę, palenie papierosów

Tabela 4.2.5. Polimorfizm *FGB* -455G>A (rs1800790) a ryzyko krwotoku śródmożgowego płatowego w populacji polskiej

		Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
		OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy	<i>Model dominujący</i>				
	AA+AG vs GG	0,7 (0,4-1,1)	0,09	1,1 (0,6-1,7)	0,83
	<i>Model recesywny</i>				
	AA vs AG+GG	0,9 (0,4-1,9)	0,76	0,8 (0,3-1,8)	0,57
	<i>Model addytywny</i>				
	AA vs AG vs GG	1,0 (0,7-1,4)	0,91	1,0 (0,7-1,4)	0,92
Allele					
	A vs G	1,0 (0,7-1,41)	0,92	1,0 (0,5-2,0)	0,91

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, palenie papierosów

W populacji greckiej, zarówno w całej grupie pacjentów z pierwotnym krwotokiem śródmózgowym, jak i po uwzględnieniu lokalizacji krwotoku, w analizach: jedno- i wieloczynnikowej nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy badanym polimorfizmem a ryzykiem krwotoku śródmózgowego (Tabele 4.2.6.-8.).

Tabela 4.2.6. Polimorfizm *FGF-455G>A* (rs1800790) a ryzyko krwotoku śródmózgowego w populacji greckiej

	Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
	OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy				
<i>Model dominujący</i>				
AA+AG vs GG	1,0 (0,7-1,5)	0,85	1,0 (0,6-1,5)	0,96
<i>Model recesywny</i>				
AA vs AG+GG	0,6 (0,3-1,3)	0,19	0,6 (0,3-1,2)	0,15
<i>Model addytywny</i>				
AA vs AG vs GG	1,1 (0,8-1,4)	0,67	1,1 (0,8-1,5)	0,49
Allele				
A vs G	1,1 (0,8-1,4)	0,65	1,1 (0,8-1,6)	0,47

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, palenie papierosów

Tabela 4.2.7. Polimorfizm *FGB* -455G>A (rs1800790) a ryzyko krwotoku śródmózgowego głębokiego w populacji greckiej

		Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
		OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy	<i>Model dominujący</i>				
	AA+AG vs GG	1,1 (0,7-1,7)	0,70	1,1 (0,6-1,7)	0,83
	<i>Model recesywny</i>				
	AA vs AG+GG	0,6 (0,3-1,3)	0,19	0,5 (0,2-1,2)	0,11
	<i>Model addytywny</i>				
	AA vs AG vs GG	1,0 (0,8-1,5)	0,77	1,1 (0,8-1,6)	0,58
Allele					
	A vs G	1,1 (0,8-1,4)	0,76	1,1 (0,8-1,6)	0,56

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze

Tabela 4.2.8. Polimorfizm *FGB* -455G>A (rs1800790) a ryzyko krwotoku śródmózgowego płatowego w populacji greckiej

		Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
		OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy	<i>Model dominujący</i>				
	AA+AG vs GG	0,6 (0,4-1,1)	0,09	0,8 (0,5-1,1)	0,58
	<i>Model recesywny</i>				
	AA vs AG+GG	0,7 (0,3-1,9)	0,51	0,6 (0,2-1,7)	0,37
	<i>Model addytywny</i>				
	AA vs AG vs GG	1,1 (0,7-1,6)	0,65	1,2 (0,8-1,8)	0,41
Allele					
	A vs G	1,1 (0,7-1,7)	0,63	1,2 (0,8-1,9)	0,38

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, palenie papierosów

4.3. Polimorfizm *F13A1* Val34Leu (rs5985) a ryzyko zachorowania na pierwotny krwotok śródmózgowy

Rozkład liczbowy i procentowy genotypów oraz alleli polimorfizmu *F13A1* Val34Leu w populacji polskiej z uwzględnieniem lokalizacji pierwotnego krwotoku śródmózgowego przedstawia Tabela 4.3.1.

Tabela 4.3.1. Rozkład genotypów i alleli polimorfizmu *F13A1* Val34Leu (rs5985) w populacji polskiej

		Chorzy z krwotokiem śródmózgowym n=243	Chorzy z krwotokiem głębokim n=148	Chorzy z krwotokiem płatowym n=95	Grupa kontrolna n=407
Genotypy, n (%)	GG	110 (45,3%)	67 (45,3%)	43 (45,3%)	207 (50,9%)
	GT	114 (46,9%)	69 (46,6%)	45 (47,4%)	166 (40,8%)
	TT	19 (7,8%)	12 (8,1%)	7 (7,4%)	34 (8,4%)
Allele, n (%)	G	334 (68,7%)	203 (68,6%)	131 (68,9%)	580 (71,3%)
	T	152 (31,3%)	93 (31,4%)	59 (31,1%)	234 (28,7%)

Rozkład liczbowy i procentowy genotypów oraz alleli polimorfizmu *F13A1* Val34Leu w populacji greckiej z uwzględnieniem lokalizacji pierwotnego krwotoku śródmózgowego, przedstawia Tabela 4.3.2.

Tabela 4.3.2. Rozkład genotypów i alleli polimorfizmu *F13A1* Val34Leu (rs5985) w populacji greckiej

		Chorzy z krwotokiem śródmózgowym n=239	Chorzy z krwotokiem głębokim n=158	Chorzy z krwotokiem płatowym n=81	Grupa kontrolna n=249
Genotypy, n (%)	GG	165 (69,0%)	109 (69,0%)	56 (69,1%)	157 (63,1%)
	GT	64 (26,8%)	43 (27,2%)	21 (25,9%)	82 (32,9%)
	TT	10 (4,2%)	6 (3,8%)	4 (4,9%)	10 (4,0%)
Allele, n (%)	G	394 (82,4%)	261 (82,6%)	133 (82,1%)	396 (79,5%)
	T	84 (17,6%)	55 (17,4%)	29 (17,9%)	102 (20,5%)

W populacji polskiej analiza jednoczynnikowa nie wykazała zależności pomiędzy polimorfizmem *F13A1* Val34Leu a ryzykiem zachorowania na pierwotny krwotok śródmózgowy. Natomiast analiza wieloczynnikowa uwzględniająca: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, cukrzycę oraz palenie papierosów wykazała, że genotyp TT tego polimorfizmu jest związany ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na pierwotny krwotok śródmózgowy w ogóle w populacji polskiej, w recesywnym i addytywnym modelu. (Tabela 4.3.3.). Po podziale polskiej populacji chorych z krwotokiem śródmózgowym ze względu na jego lokalizację zarówno analiza jedno- jak i wieloczynnikowa nie wykazały związku pomiędzy polimorfizmem *F13A1* Val34Leu a ryzykiem krwotoku śródmózgowego, a co najwyżej trend dla genotypu TT w modelu recesywnym w krwotoku głębokim ($p < 0,07$, 95%CI (0,4-1,0)) (Tabela 4.3.4.-5.).

Tabela 4.3.3. Polimorfizm *F13A1* Val34Leu (rs5985) a ryzyko krwotoku śródmózgowego w populacji polskiej

		Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
		OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy	<i>Model dominujący</i>				
	TT+GT vs GG	0,9 (0,5-1,7)	0,81	1,0 (0,5-2,0)	0,97
	<i>Model recesywny</i>				
	TT vs GT+GG	1,3 (0,9-1,7)	0,17	1,7 (1,1-2,5)	0,01
	<i>Model addytywny</i>				
	TT vs GT vs GG	1,1 (0,9-1,7)	0,28	1,4 (1,0-1,7)	0,04
Allele					
	T vs G	1,1 (0,9-1,4)	0,33	1,4 (0,9-2,5)	0,12

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, cukrzycę, palenie papierosów

Tabela 4.3.4. Polimorfizm *F13A1* Val34Leu (rs5985) a ryzyko krwotoku śródmózgowego głębokiego w populacji polskiej

		Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
		OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy	<i>Model dominujący</i>				
	TT+GT vs GG	1,0 (0,5-2,0)	0,93	1,0 (0,5-2,0)	0,94
	<i>Model recesywny</i>				
	TT vs GT+GG	1,3 (0,8-2,0)	0,24	1,4 (1,0-2,5)	0,07
	<i>Model addytywny</i>				
	TT vs GT vs GG	0,9 (0,7-1,3)	0,38	0,8 (0,6-1,1)	0,16
Allele					
	T vs G	1,1 (0,8-1,4)	0,39	1,7 (0,8-3,3)	0,16

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, cukrzycę, palenie papierosów

Tabela 4.3.5. Polimorfizm *F13A1* Val34Leu (rs5985) a ryzyko krwotoku śródmózgowego płatkowego w populacji polskiej

		Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
		OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy	<i>Model dominujący</i>				
	TT+GT vs GG	0,6 (0,2-1,3)	0,18	0,8 (0,3-2,0)	0,63
	<i>Model recesywny</i>				
	TT vs GT+GG	1,2 (0,8-2,0)	0,33	1,3 (0,8-2,0)	0,23
	<i>Model addytywny</i>				
	TT vs GT vs GG	0,9 (0,6-1,3)	0,53	0,9 (0,6-1,3)	0,47
Allele					
	T vs G	1,1 (0,8-1,7)	0,53	1,2 (0,6-2,5)	0,47

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, palenie papierosów

W populacji greckiej, zarówno w całej grupie pacjentów z krwotokiem śródmózgowym, jak i po podziale w zależności od lokalizacji krwotoku, po przeprowadzeniu analizy jedno- i wieloczynnikowej, nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy badanym polimorfizmem a ryzykiem krwotoku śródmózgowego (Tabele 4.3.6.-8.).

Tabela 4.3.6. Polimorfizm *F13A1* Val34Leu (rs5985) a ryzyko krwotoku śródmózgowego w populacji greckiej

	Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
	OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy				
<i>Model dominujący</i>				
TT+GT vs GG	1,0 (0,4-2,5)	0,93	0,9 (0,3-2,5)	0,83
<i>Model recesywny</i>				
TT vs GT+GG	0,8 (0,5-1,1)	0,16	0,8 (0,5-1,3)	0,29
<i>Model addytywny</i>				
TT vs GT vs GG	0,8 (0,6-1,3)	0,25	0,8 (0,6-1,3)	0,34
Allele				
T vs G	1,3 (0,9-1,7)	0,25	1,3 (0,8-1,7)	0,33

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, palenie papierosów

Tabela 4.3.7. Polimorfizm F13A1 Val34Leu (rs5985) a ryzyko krwotoku śródmózgowego głębokiego w populacji greckiej

		Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
		OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy	<i>Model dominujący</i>				
	TT+GT vs GG	0,9 (0,3-2,5)	0,91	0,7 (0,2-2,5)	0,60
	<i>Model recesywny</i>				
	TT vs GT+GG	0,8 (0,5-1,1)	0,22	0,8 (0,5-1,4)	0,52
	<i>Model addytywny</i>				
	TT vs GT vs GG	0,8 (0,6-1,3)	0,29	0,9 (0,6-1,3)	0,47
Allele					
	T vs G	1,3 (0,8-1,7)	0,28	1,1 (0,8-1,7)	0,46

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, palenie papierosów

Tabela 4.3.8. Polimorfizm F13A1 Val34Leu (rs5985) a ryzyko krwotoku śródmózgowego płatkowego w populacji greckiej

		Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
		OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy	<i>Model dominujący</i>				
	TT+GT vs GG	0,8 (0,3-2,5)	0,81	1,3 (0,4-5,0)	0,72
	<i>Model recesywny</i>				
	TT vs GT+GG	0,8 (0,5-1,3)	0,32	0,8 (0,5-1,4)	0,38
	<i>Model addytywny</i>				
	TT vs GT vs GG	0,8 (0,5-1,3)	0,48	0,9 (0,5-1,4)	0,54
Allele					
	T vs G	1,3 (0,8-2,0)	0,47	1,1 (0,7-2,0)	0,54

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, palenie papierosów

4.4. Polimorfizm *CRP +1444 C>T (rs1130864)* a ryzyko zachorowania na pierwotny krwotok śródmózgowy

Rozkład liczbowy i procentowy genotypów oraz alleli polimorfizmu *CRP +1444C>T* w populacji polskiej z uwzględnieniem lokalizacji pierwotnego krwotoku śródmózgowego przedstawia Tabela 4.4.1.

Tabela 4.4.1. Rozkład genotypów i alleli polimorfizmu *CRP +1444 C>T (rs1130864)* w populacji polskiej

		Chorzy z krwotokiem śródmózgowym n=255	Chorzy z krwotokiem głębokim n=153	Chorzy z krwotokiem płatowym n=102	Grupa kontrolna n=313
Genotypy, n (%)	CC	125 (49,0%)	75 (49,0%)	50 (49,0%)	137 (43,8%)
	CT	117 (45,9%)	69 (45,1%)	48 (47,1%)	141 (45,0%)
	TT	13 (5,1%)	9 (5,9%)	4 (3,9%)	35 (11,2%)
Allele, n (%)	C	367 (72,0%)	219 (71,6%)	148 (72,5%)	415 (66,3%)
	T	143 (28,0%)	87 (28,4%)	56 (27,5%)	211 (33,7%)

Rozkład liczbowy i procentowy genotypów oraz alleli polimorfizmu *CRP +1444C>T* w populacji greckiej z uwzględnieniem lokalizacji pierwotnego krwotoku śródmózgowego, przedstawia Tabela 4.4.2.

Tabela 4.4.2. Rozkład genotypów i alleli polimorfizmu *CRP +1444 C>T (rs1130864)* w populacji greckiej

		Chorzy z krwotokiem śródmózgowym n=246	Chorzy z krwotokiem głębokim n=165	Chorzy z krwotokiem płatowym n=81	Grupa kontrolna n=236
Genotypy, n (%)	CC	108 (43,9%)	73 (44,2%)	35 (43,2%)	105 (44,5%)
	CT	101 (41,1%)	63 (38,2%)	38 (46,9%)	105 (44,5%)
	TT	37 (15,0%)	29 (17,6%)	8 (9,9%)	26 (11,0%)
Allele, n (%)	C	317 (64,4%)	209 (63,3%)	108 (66,7%)	315 (66,7%)
	T	175 (35,6%)	121 (36,7%)	54 (33,3%)	157 (33,3%)

W populacji polskiej analiza jednoczynnikowa wykazała, że genotyp TT polimorfizmu *CRP* +1444C>T jest związany ze zmniejszonym ryzykiem zachorowania na krwotok śródmózgowy w ogóle w modelu dominującym i addytywnym. Analiza wieloczynnikowa uwzględniająca: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, cukrzycę oraz palenie papierosów wykazała, że genotyp TT jest związany z prawie trzykrotnie zmniejszonym ryzykiem zachorowania na pierwotny krwotok śródmózgowy w modelu dominującym w populacji polskiej. Analiza jednoczynnikowa dla alleli potwierdziła, że allel T badanego polimorfizmu jest związany ze zmniejszonym ryzykiem krwotoku śródmózgowego w ogóle w populacji polskiej (Tabela 4.4.3.). Zarówno analiza jednoczynnikowa, jak i analiza wieloczynnikowa uwzględniająca: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze oraz palenie papierosów wykazały, że genotyp TT jest związany z pięciokrotnie zmniejszonym ryzykiem płatowego krwotoku śródmózgowego w dominującym modelu w populacji polskiej (Tabela 4.4.5.). Nie stwierdzono natomiast związku pomiędzy badanym polimorfizmem a krwotokiem śródmózgowym w lokalizacji głębokiej (Tabela 4.4.4.).

Tabela 4.4.3. Polimorfizm *CRP* +1444 C>T (rs1130864) a ryzyko krwotoku śródmózgowego w populacji polskiej

	Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
	OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy	<i>Model dominujący</i>			
TT+CT vs CC	0,4 (0,2-0,7)	0,01	0,4 (0,2-0,8)	0,01
	<i>Model recesywny</i>			
TT vs CT+CC	0,8 (0,6-1,1)	0,21	0,9 (0,6-1,3)	0,55
	<i>Model addytywny</i>			
TT vs CT vs CC	0,8 (0,6-1,0)	0,04	0,8 (0,6-1,1)	0,21
Allele				
T vs C	0,6 (0,3-1,0)	0,04	0,6 (0,4-1,1)	0,12

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, cukrzycę, palenie papierosów

Tabela 4.4.4. Polimorfizm *CRP* +1444 C>T (rs1130864) a ryzyko krwotoku śródmózgowego głębokiego w populacji polskiej

		Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
		OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy	<i>Model dominujący</i>				
	TT+CT vs CC	0,5 (0,2-1,1)	0,07	0,5 (0,2-1,1)	0,11
	<i>Model recesywny</i>				
	TT vs CT+CC	0,8 (0,6-1,3)	0,29	1,0 (0,6-1,4)	0,90
	<i>Model addytywny</i>				
	TT vs CT vs CC	0,8 (0,6-1,0)	0,10	0,8 (0,6-1,3)	0,41
Allele					
	T vs C	0,6 (0,3-1,1)	0,10	0,8 (0,4-1,4)	0,41

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, cukrzycę, palenie papierosów

Tabela 4.4.5. Polimorfizm *CRP* +1444 C>T (rs1130864) a ryzyko krwotoku śródmózgowego płatowego w populacji polskiej

		Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
		OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy	<i>Model dominujący</i>				
	TT+CT vs CC	0,2 (0,0-0,8)	0,03	0,2 (0,0-0,8)	0,03
	<i>Model recesywny</i>				
	TT vs CT+CC	0,8 (0,5-1,3)	0,31	0,8 (0,5-1,4)	0,46
	<i>Model addytywny</i>				
	TT vs CT vs CC	0,7 (0,5-1,0)	0,06	0,7 (0,5-1,1)	0,10
Allele					
	T vs C	0,5 (0,2-1,0)	0,06	1,0 (0,2-1,1)	0,10

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, palenie papierosów

W populacji greckiej, zarówno w całej grupie pacjentów z krwotokiem śródmózgowym, jak i po uwzględnieniu lokalizacji krwotoku, w analizach jedno i wieloczynnikowych, nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy badanym polimorfizmem a ryzykiem krwotoku śródmózgowego (Tabele 4.4.6-8.).

Tabela 4.4.6. Polimorfizm *CRP* +1444 C>T (rs1130864) a ryzyko krwotoku śródmózgowego w populacji greckiej

	Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
	OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy				
<i>Model dominujący</i>				
TT+CT vs CC	1,4 (0,8-2,5)	0,19	1,3 (0,7-2,5)	0,39
<i>Model recesywny</i>				
TT vs CT+CC	1,0 (0,7-1,4)	0,90	1,0 (0,7-1,4)	0,91
<i>Model addytywny</i>				
TT vs CT vs CC	0,9 (0,7-1,3)	0,46	1,0 (0,7-1,3)	0,74
Allele				
T vs C	0,9 (0,7-1,3)	0,45	0,9 (0,7-1,3)	0,73

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, palenie papierosów

Tabela 4.4.7. Polimorfizm *CRP* +1444 C>T (rs1130864) a ryzyko krwotoku śródmózgowego głębokiego w populacji greckiej

		Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
		OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy	<i>Model dominujący</i>				
	TT+CT vs CC	1,7 (1,0-3,3)	0,06	1,7 (0,8-3,3)	0,15
	<i>Model recesywny</i>				
	TT vs CT+CC	1,0 (0,7-1,4)	0,96	0,9 (0,6-1,4)	0,74
	<i>Model addytywny</i>				
	TT vs CT vs CC	0,9 (0,7-1,1)	0,34	0,9 (0,7-1,3)	0,63
Allele					
	T vs C	0,9 (0,6-1,1)	0,32	0,9 (0,7-1,3)	0,62

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze

Tabela 4.4.8. Polimorfizm *CRP* +1444 C>T (rs1130864) a ryzyko krwotoku śródmózgowego płatowego w populacji greckiej

		Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
		OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy	<i>Model dominujący</i>				
	TT+CT vs CC	0,6 (0,2-1,3)	0,16	0,9 (0,4-2,0)	0,76
	<i>Model recesywny</i>				
	TT vs CT+CC	1,1 (0,6-1,7)	0,84	1,0 (0,6-1,7)	0,94
	<i>Model addytywny</i>				
	TT vs CT vs CC	1,0 (0,7-1,4)	0,99	1,0 (0,7-1,4)	0,93
Allele					
	T vs C	1,0 (0,7-1,4)	0,99	1,0 (0,7-1,4)	0,99

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, palenie papierosów

4.5. Polimorfizm *IL6* -174G>C (rs1800795) a ryzyko zachorowania na pierwotny krwotok śródmózgowy

Rozkład liczbowy i procentowy genotypów oraz alleli polimorfizmu *IL6* -174G>C w populacji polskiej z uwzględnieniem lokalizacji pierwotnego krwotoku śródmózgowego przedstawia Tabela 4.5.1.

Tabela 4.5.1. Rozkład genotypów i alleli polimorfizmu *IL6* -174G>C (rs1800795) w populacji polskiej.

		Chorzy z krwotokiem śródmózgowym n=251	Chorzy z krwotokiem głębokim n=151	Chorzy z krwotokiem płatowym n=100	Grupa kontrolna n=441
Genotypy, n (%)	CC	52 (20,7%)	25 (16,6%)	27 (27,0%)	95 (21,5%)
	CG	125 (49,8%)	84 (55,6%)	41 (41,0%)	208 (47,2%)
	GG	74 (29,5%)	42 (27,8%)	32 (32,0%)	138 (31,3%)
Allele, n (%)	C	229 (45,6%)	134 (44,4%)	95 (47,5%)	398 (45,1%)
	G	273 (54,4%)	168 (55,6%)	105 (52,5%)	484 (54,9%)

Rozkład liczbowy i procentowy genotypów oraz alleli polimorfizmu *IL6* -174G>C w populacji greckiej z uwzględnieniem lokalizacji pierwotnego krwotoku śródmózgowego przedstawia Tabela 4.5.2.

Tabela 4.5.2. Rozkład genotypów i alleli polimorfizmu *IL6* -174G>C (rs1800795) w populacji greckiej

		Chorzy z krwotokiem śródmózgowym n=246	Chorzy z krwotokiem głębokim n=165	Chorzy z krwotokiem płatowym n=81	Grupa kontrolna n=242
Genotypy, n (%)	CC	9 (3,7%)	5 (3,0%)	4 (4,9%)	18 (7,4%)
	CG	87 (35,4%)	48 (29,1%)	39 (48,1%)	87 (36,0%)
	GG	150 (61,0%)	112 (67,9%)	38 (46,9%)	137 (56,6%)
Allele, n (%)	C	105 (21,3%)	58 (17,6%)	47 (29,0%)	123 (25,4%)
	G	387 (78,7%)	272 (82,4%)	115 (71,0%)	361 (74,6%)

W populacji polskiej, zarówno w całej grupie pacjentów z krwotokiem śródmózgowym, jak i po uwzględnieniu lokalizacji krwotoku, w analizach jedno- i wieloczynnikowych, nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy polimorfizmem *IL6* -174G>C a ryzykiem krwotoku śródmózgowego (Tabele 4.5.3-5.).

Tabela 4.5.3. Polimorfizm *IL6* -174G>C (rs1800795) a ryzyko krwotoku śródmózgowego w populacji polskiej

		Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
		OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy	<i>Model dominujący</i>				
	CC+CG vs GG	1,1 (0,8-1,5)	0,62	1,0 (0,8-1,3)	0,98
	<i>Model recesywny</i>				
	CC vs CG+GG	1,0 (0,7-1,4)	0,80	0,9 (0,6-1,4)	0,71
	<i>Model addytywny</i>				
	CC vs CG vs GG	1,0 (0,8-1,3)	0,88	1,0 (0,8-1,2)	0,84
Allele					
	C vs G	1,0 (0,7-1,7)	0,87	1,0 (0,6-1,5)	0,84

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, cukrzycę, palenie papierosów

Tabela 4.5.4. Polimorfizm *IL6* -174G>C (rs1800795) a ryzyko krwotoku śródmózgowego głębokiego w populacji polskiej

		Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
		OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy	<i>Model dominujący</i>				
	CC+CG vs GG	1,2 (0,8-1,8)	0,42	1,0 (0,7-1,6)	0,85
	<i>Model recesywny</i>				
	CC vs CG+GG	0,7 (0,4-1,2)	0,19	0,7 (0,4-1,1)	0,14
	<i>Model addytywny</i>				
	CC vs CG vs GG	1,0 (0,7-1,3)	0,82	0,9 (0,7-1,2)	0,47
Allele					
	C vs G	0,9 (0,6-1,6)	0,82	0,8 (0,5-1,4)	0,47

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, cukrzycę, palenie papierosów

Tabela 4.5.5. Polimorfizm *IL6* -174G>C (rs1800795) a ryzyko krwotoku śródmózgowego płatkowego w populacji polskiej

		Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
		OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy	<i>Model dominujący</i>				
	CC+CG vs GG	1,0 (0,6-1,6)	0,89	0,9 (0,6-1,5)	0,67
	<i>Model recesywny</i>				
	CC vs CG+GG	1,3 (0,8-2,2)	0,24	1,3 (0,7-2,2)	0,36
	<i>Model addytywny</i>				
	CC vs CG vs GG	1,1 (0,8-1,5)	0,56	1,1 (0,8-1,5)	0,59
Allele					
	C vs G	1,2 (0,7-2,2)	0,56	1,2 (0,6-2,3)	0,59

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, palenie papierosów

W populacji greckiej analiza jednoczynnikowa nie wykazała związku polimorfizmu *IL6* -174G>C z ryzykiem zachorowania na pierwotny krwotok śródmózgowy w ogóle. Natomiast w analizie wieloczynnikowej uwzględniającej: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze oraz palenie papierosów, wykazano, że genotyp CC w modelu recesywnym jest związany ze zmniejszonym ryzykiem krwotoku śródmózgowego w ogóle (Tabela 4.5.6.). Analiza jednoczynnikowa wykazała ponadto związek genotypu CC ze zmniejszonym ryzykiem głębokiego krwotoku śródmózgowego w populacji greckiej w modelu dominującym i addytywnym. Natomiast analiza wieloczynnikowa, uwzględniająca: wiek, płeć i nadciśnienie tętnicze wykazała, że w populacji greckiej genotyp CC jest związany ze zmniejszonym ryzykiem krwotoku śródmózgowego głębokiego w recesywnym modelu oraz w modelu addytywnym. Obecność allelu C jest związana się ze zmniejszonym ryzykiem głębokiego krwotoku śródmózgowego w populacji greckiej zarówno w analizie jedno- i wieloczynnikowej (Tabela 4.5.7.). Ponadto, w analizie wieloczynnikowej genotyp CC związany jest ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na płatowy krwotok śródmózgowy w modelu dominującym (Tabela 4.5.8.).

Tabela 4.5.6. Polimorfizm *IL6* -174G>C (rs1800795) a ryzyko krwotoku śródmózgowego w populacji greckiej

		Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
		OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy	<i>Model dominujący</i>				
	CC+CG vs GG	0,8 (0,6-1,2)	0,36	1,0 (0,7-1,4)	0,89
	<i>Model recesywny</i>				
	CC vs CG+GG	0,5 (0,2-1,1)	0,10	0,4 (0,2-0,9)	0,03
	<i>Model addytywny</i>				
	CC vs CG vs GG	0,8 (0,6-1,4)	0,16	0,9 (0,6-1,2)	0,34
Allele					
	C vs G	0,7 (0,4-1,2)	0,16	0,7 (0,4-1,4)	0,34

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, palenie papierosów

Tabela 4.5.7. Polimorfizm *IL6* -174G>C (rs1800795) a ryzyko krwotoku śródmózgowego głębokiego w populacji greckiej

		Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
		OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy	<i>Model dominujący</i>				
	CC+CG vs GG	0,7 (0,4-1,0)	0,04	0,6 (0,4-1,0)	0,07
	<i>Model recesywny</i>				
	CC vs CG+GG	0,4 (0,1-1,1)	0,09	0,3 (0,1-0,8)	0,02
	<i>Model addytywny</i>				
	CC vs CG vs GG:	0,7 (0,5-0,9)	0,02	0,6 (0,4-0,9)	0,02
Allele					
	C vs G	0,4 (0,2-0,9)	0,02	0,4 (0,2-0,8)	0,02

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze

Tabela 4.5.8. Polimorfizm *IL6* -174G>C (rs1800795) a ryzyko krwotoku śródmózgowego płatkowego w populacji greckiej

		Analiza jednoczynnikowa		Analiza wieloczynnikowa*	
		OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Genotypy	<i>Model dominujący</i>				
	CC+CG vs GG	1,6 (0,9-2,6)	0,09	1,7 (1,0-3,0)	0,04
	<i>Model recesywny</i>				
	CC vs CG+GG	0,7 (0,2-2,1)	0,50	0,6 (0,2-1,9)	0,38
	<i>Model addytywny</i>				
	CC vs CG vs GG	1,3 (0,8-1,9)	0,26	1,3 (0,9-2,0)	0,21
Allele					
	C vs G	1,6 (0,7-3,6)	0,26	1,7 (0,7-3,9)	0,21

* uwzględniono: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, palenie papierosów

5. Dyskusja

W niniejszej pracy analizowano związki pomiędzy zmiennością genetyczną wybranych elementów układu krzepnięcia oraz procesu zapalnego, a ryzykiem pierwotnego krwotoku śródmózgowego. Oceniano znaczenie polimorfizmów pojedynczych nukleotydów genów: łańcucha beta fibrynogenu, podjednostki A czynnika XIII, białka C-reaktywnego (CRP) oraz interleukiny 6 (IL-6). Badanie przeprowadzono w dwóch różnych populacjach europejskich: polskiej i greckiej.

Wiadomo, że czynnik genetyczny, oprócz nadciśnienia tętniczego i nadużywania alkoholu, jest jednym z istotnych elementów ryzyka zachorowania na krwotok śródmózgowy. Według ostatnio publikowanych prac tło dziedziczne ma udział w znacznej części krwotoków śródmózgowych: od 29% (Devan i wsp., 2013) do nawet 44% (Carpenter i wsp., 2015).

Dowody na tło dziedziczne krwotoku pochodzą głównie z badań analizujących częstość występowania krwotoków w rodzinach osób, które przeżyły krwotok śródmózgowy (Alberts i wsp., 2002; Woo i wsp., 2002). Obecność krwotoku śródmózgowego u krewnych pierwszego stopnia kilkukrotnie zwiększa ryzyko udaru, zarówno krwotocznego jak i niedokrwiennego (Go i wsp., 2013). Na przykład w badaniu przeprowadzonym w populacji szwedzkiej wykazano, że dodatni wywiad rodzinny może dwukrotnie zwiększać ryzyko wystąpienia krwotoku śródmózgowego (Sundquist i wsp. 2006).

Jednak grupa chorób jednogenowych, o mendlowskim wzorze dziedziczenia, które zwiększają ryzyko krwotoku śródmózgowego jest nieliczna. Można tu wyróżnić przede wszystkim choroby, w których dochodzi do: (1) powstania nieprawidłowości w strukturze naczyń (naczyniaki jamiste, malformacje tętniczo-żylne) lub (2) osłabienia ich ścian (w wyniku uszkodzenia spowodowanego odkładaniem się amyloidu albo defektem kolagenu). Wśród wymienionych powyżej schorzeń przykładem grupy chorób wynikającej z nieprawidłowej struktury naczyń, są mózgowe naczyniaki jamiste (CCM, ang. *cerebral cavernous malformations*). Są to struktury naczyniowe pozbawione warstwy mięśniowej z luźno połączonymi komórkami śródbłonna, o zwiększonej podatności na krwawienie. Krwotoki występują u około 4% wszystkich chorych (Craig i wsp. 1998; Salmian i wsp., 2012; Riant i wsp., 2013). Ponad połowa tych malformacji naczyniowych występuje rodzinie i jest

dziedziczona w sposób autosomalnie dominujący (Al Holou i wsp., 2012). Dotychczas zidentyfikowano trzy geny, których mutacje są przyczyną dziedzicznych CCM, są to: *KRT1*, *CCM2* oraz *PDCD10*. Gen *KRT1* jest odpowiedzialny za produkcję białka KRT1 wpływającego na integralność połączeń śródbłonkowych (Glading i wsp., 2007) oraz kształt i funkcję komórek śródbłonka (Gunel i wsp., 2002). Białko to wchodzi w skład kompleksu białkowego, w którym oddziałuje przede wszystkim z białkiem CCM2 będącym produktem genu *CCM2* (*MGC4607*), którego funkcja nie jest jeszcze znana. Wiadomo tylko, że posiada domenę białkową wrażliwą na zmianę osmolarności (Zhang i wsp., 2007) oraz, że mutacje rodzinne w obrębie genu *CCM2* są przyczyną osłabienia interakcji białek KRT1/CCM2 (Zawistowski i wsp., 2005). Wiązanie tych dwóch wyżej wymienionych białek wzmacnia obecność białka *PDCD10*. Jest ono kodowane przez gen *PDCD10* (pierwotnie gen *CCM3*) (Bergametti i wsp., 2005; Fidalgo i wsp., 2010) mający także wpływ na angiogenezę oraz apoptozę komórkową (Voss i wsp., 2007). Ponadto, prawdopodobnym efektem aktywności wymienionych powyżej cząsteczek jest także przekazywanie sygnałów międzykomórkowych, wpływ na polarność i zmianę kształtu komórek oraz kotwiczenie białek adhezji komórkowej (Stahl i wsp., 2008).

Przykładem drugiej z wymienionych powyżej grup chorób, to jest związanych z nieprawidłową strukturą ścian naczyń, jest dziedziczna teleangiektazja krwotoczna (HHT, *hereditary hemorrhagic teleangiectasia*), czyli zespół Rendu-Oslera-Webera. Jest ona dziedziczona autosomalnie dominująco, a cechą charakterystyczną są liczne malformacje tętniczo-żylny, w których brak jest naczyń kapilarnych pomiędzy naczyniami tętniczymi i żylnymi (McDonald i wsp., 2011). W około 10% do 23% przypadków malformacje te znajdują się także w obrębie centralnego systemu nerwowego, zaś ryzyko krwawienia z nich wynosi około 0,5% na rok (Dupuis-Girod i wsp., 2010). Przyczyną tej choroby mogą być mutacje w licznych genach. W większości przypadków produkty białkowe tych genów są częścią szlaku sygnałowego transformującego czynnika wzrostu beta (TGF- β) kluczowego dla procesu angiogenezy. Przykładem są: gen endogliny (*ENG*), gen receptora aktywiny A (*ACVRL1*) czy gen czynnika transkrypcyjnego Smad4 (*MADH4*) (McDonald i wsp., 2000; Fernandez-L i wsp., 2006).

Kolejną grupę schorzeń, tym razem z nieprawidłowościami w obrębie ścian naczyń, stanowią mózgowo angiopatie amyloidowe (CAA, ang. *cerebral amyloid angiopathies*). Ich

podstawową patologią jest odkładanie się białka amyloidowego, głównie w ścianach gałęzi korowych i oponowych średnich tętnic oraz drobnych tętniczek mózgowych, rzadziej zaś w naczyniach żylnych oraz kapilarach (Attems i wsp., 2011). Proces ten może zachodzić w starszym wieku, zwykle bez zdefiniowanego tła genetycznego. Są także postaci uwarunkowane genetycznie. W przypadku tych ostatnich, przyczyną są głównie mutacje w obrębie genów kodujących białka będące zazwyczaj prekursorami powstającego amyloidu. Do najczęstszych należą mutacje w obrębie genu *APP*, czyli białka prekursorowego amyloidu beta (ang. *amyloid beta precursor protein*), które to białko jest także źródłem amyloidu w sporadycznej postaci CAA. Mutacje te prowadzą do określonych podtypów różniących się między innymi manifestacją kliniczną takich, jak: typ Iowa, typ holenderski, włoski, arktyczny czy flamandzki (Biffi i Greenberg, 2011). Zidentyfikowano także mutacje w obrębie genów innych białek takich, jak: cystatyna C kodowana przez gen *CST3* w przypadku CAA typu islandzkiego (Levy i wsp., 2006) czy transtyretyna, kodowana przez gen *TTR* (Kametani i wsp., 1992). Istotą procesu angiopatii amyloidowej jest między innymi zwiększenie kruchości ścian naczyń, co może prowadzić do krwotoku śródmózgowego (Greenberg i wsp.; 2003; Kamp i wsp., 2014). Mechanizmem, którym tłumaczy się tę zwiększoną podatność na krwawienie jest obecność okołonaczyniowego procesu zapalnego zapoczątkowanego przez odkładający się amyloid, co ma prowadzić ostatecznie do uszkodzenia ścian naczynia i wynaczynienia krwi (Eng i wsp., 2004). Spektrum objawów klinicznych jest zresztą szerokie. Oprócz krwotoków śródmózgowych obejmuje zaburzenia poznawcze, w tym: zespoły otępienne, napady padaczkowe, uszkodzenie istoty białej - a w niektórych rzadkich postaciach - także polineuropatię, ataksję, głuchotę czy tetraparezę spastyczną (Biffi i Greenberg, 2011).

Uszkodzenie ścian naczyń może też wynikać z nieprawidłowej budowy współtworzącego ją kolagenu. Gould i wsp. zaobserwowali, że fenotyp myszy z określoną mutacją łańcucha kolagenu typu IV, będącego głównym elementem błony podstawnej, był bardziej podatny na krwotoki śródmózgowe okołoporodowe oraz pourazowe. Bazując na podobieństwie obrazu klinicznego tego fenotypu zwierzęcego do rodziny francuskiej, w której obserwowano nieprawidłowości istoty białej, kręty przebieg naczyń tętniczych oraz krwotoki śródmózgowe, przeanalizowano gen *COL4A1* i zidentyfikowano mutację G562E, zmieniającą strukturę domeny białka z potrójną helisą (2005, 2006). U osób z tą mutacją do krwotoku

śródmózgowego dochodziło pod wpływem urazu lub podczas stosowania doustnych antykoagulantów, zaś krwinki zlokalizowane były podkorowo. Opisano także inne mutacje w obrębie tego samego genu związane z występowaniem krwotoku śródmózgowego. Między innymi u 25-letniego chorego z ośmioletnią historią nawracających krwotoków, z widocznym w badaniu rezonansu magnetycznego głowy znacznym uszkodzeniem istoty białej oraz licznymi mikrokrwawieniami, stwierdzono obecność mutacji G805R (Vahedi i wsp., 2007). Z kolei w badaniu populacyjnym Wenga i wsp. wykazano, że u osób z krwotokiem śródmózgowym znacząco częściej niż u osób zdrowych występują kolejne dwie mutacje w obrębie genu *COL4A1*: P352L oraz R538G (2012).

Wymienione powyżej choroby monogenowe odpowiadają jednak za bardzo niewielki odsetek krwotoków śródmózgowych i nie tłumaczą w całości dziedzicznego aspektu krwotoku. Pozostała część tła genetycznego wydaje się być zależna od zmienności genetycznej, która wyrażana jest poprzez wiele wariantów genetycznych, razem wpływających w złożony sposób na podatność na zachorowanie. Najczęstszą formą takiej zmienności są polimorfizmy pojedynczych nukleotydów. W tym przypadku, polimorficzne allele występują zarówno u osób zdrowych, jak i chorych, zaś różnice w częstości ich występowania sugerują, że dany fragment chromosomu może być powiązany z występowaniem choroby. Strategie poszukiwań tych spośród wariantów genetycznych, które mają wpływ na ryzyko wystąpienia określonego fenotypu są zasadniczo dwie: (i) w oparciu o aktualną wiedzę o patomechanizmie formułuje się hipotezę badawczą, a następnie wybiera się i analizuje różne warianty genów mogące wpływać na ryzyko krwotoku śródmózgowego - badania genów kandydatów (CGS, ang. *Candidate Gene Studies*) albo (ii) bez hipotezy badawczej, analizuje się setki tysięcy polimorfizmów w ramach badań asocjacyjnych całego genomu (GWAS, ang. *genome wide association study*).

W pierwszym przypadku punktem wyjścia jest określenie procesów zaangażowanych w patofizjologię danego schorzenia oraz wytypowanie genów cząsteczek, które są kluczowe dla tych procesów. W przypadku krwotoku śródmózgowego za najistotniejsze zjawiska uznaje się m. in.: rozwój nadciśnienia tętniczego, nieprawidłowości budowy ścian naczyń, dysfunkcję śródbłonna naczyniowego, zaburzenia w obrębie układu krzepnięcia, reakcję

zapalną oraz tworzenie się blaszek amyloidowych w obrębie ścian naczyń mózgowych (Rost i wsp., 2008).

Do tej pory w badaniach genów kandydatów wykazano związek z krwotokiem śródmózgowym licznych SNPs. Należą do nich m.in.: warianty genów zaangażowanych w: (i) rozwój nadciśnienia tętniczego, takie jak gen konwertazy angiotensyny (*ACE*), gdzie genotyp DD zwiększał ryzyko krwotoku w populacji polskiej (Słowik i wsp., 2004); (ii) kontrolę hemostazy: gen *APOH* (apolipoproteiny H) związanej z procesem agregacji płytek, gdzie wariant z allelem A polimorfizmu *APOH* G341A w sposób znaczący zwiększał częstość krwotoku w populacji chińskiej (Xia i wsp., 2004), gen łańcucha tubuliny beta-1 *TUBB1*, białka zaangażowanego w utrzymanie struktury oraz stabilności płytek krwi, w którym obecność polimorfizmu Q43P w populacji hiszpańskiej znacząco zwiększała ryzyko krwotoku (Navarro-Nunez i wsp., 2007), gen VII czynnika krzepnięcia *FVII*, gdzie delekcja/insercja w miejscu -323 predysponowała do krwawienia wewnątrzczaszkowego w populacji hiszpańskiej (Corral i wsp., 2001); czy też wreszcie (iii) przebieg stanu zapalnego: gen interferonu ϵ (*IFNE*), w którym allel T polimorfizmu Gln71Stop był związany ze zwiększonym ryzykiem krwotoku w populacji koreańskiej (Kim i wsp., 2014), gen płytkowego czynnika wzrostu (*PDGFD*), gdzie genotyp AA polimorfizmu -858A>C predysponował do krwotoku w populacji Han (Bai i wsp., 2012), czy wreszcie gen tkankowego inhibitora metaloproteinazy 2 (*TIMP2*), gdzie allel A polimorfizmu -261G>A zwiększał ryzyko krwawienia w populacji niemieckiej (Reuter i wsp., 2009). Opisano ponadto polimorfizmy zwiększające ryzyko krwotoku śródmózgowego poprzez różne, inne mechanizmy (iv), często nie do końca poznane: genu fibryliny 1 (*FBN1*), genu cząsteczki adhezji komórkowej płytkowo-śródbłonkowej (*PECAM1*), genu reduktazy witaminy K (*VKORC1*) (Yamada i wsp., 2006), genu białka kanału potasowego (*KCNK17*) (He i wsp., 2014).

Wśród polimorfizmów genów związanych z krwotokiem śródmózgowym, szczególną pozycję zajmują polimorfizmy genu apolipoproteiny E (ApoE) - *APOE*. Wiadomo, że allele $\epsilon 2$ i $\epsilon 4$ są związane ze zwiększonym ryzykiem krwotoku płatowego (Woo i wsp., 2002; Woo i wsp., 2005) oraz nawracającego krwotoku śródmózgowego (O'Donnell i wsp., 2010). Ponadto, allel $\epsilon 2$ zwiększa ryzyko krwotoku związanego z doustnym leczeniem przeciwkrzepliwym (Rosand i wsp., 2000). O ile mutacje w obrębie omawianych wcześniej genów białek prekursorowych

amyloidu prowadzą bezpośrednio do tworzenia się amyloidu, o tyle poszczególne warianty *APOE* tylko predysponują do rozwoju sporadycznej postaci mózgowej angiopatii amyloidowej i - co za tym idzie - do krwotoku śródmózgowego. Wynika to z faktu, że różne warianty ApoE wiążąc się z beta amyloidem wpływają nie tylko na jego strukturę (Wisniewski i wsp., 1993), ale też na proces tworzenia oraz degradacji plak amyloidowych (Lambert i wsp., 1998).

Nie do końca pozostaje poznany mechanizm, w wyniku którego obecność poszczególnych alleli *APOE* oraz angiopatii amyloidowej zwiększa ryzyko krwotoku śródmózgowego. Obecnie przeważa pogląd, że allel $\epsilon 4$ genu *APOE* zwiększa odkładanie się beta amyloidu w ścianach naczyń, podczas gdy allel $\epsilon 2$ powoduje uszkodzenie naczyń w przebiegu angiopatii amyloidowej, co skutkuje powstawaniem: mikrotętniaków, martwicy włóknikowatej oraz mikrokrwawienia (Greenberg i wsp., 1998; McCarron i wsp., 1999). Rozwój tej waskulopatii może przebiegać z towarzyszącym procesem zapalnym, którego nasilenie wydaje się mieć także istotny związek ze stopniem uszkodzenia naczyń (Eng i wsp., 2004).

Drugie podejście do poszukiwania wariantów genetycznych związanych z ryzykiem krwotoku śródmózgowego, czyli badania GWA, w których, w dużych populacjach porównuje się częstotliwość alleli pomiędzy grupą chorych a grupą kontrolną, nie przyniosły dotychczas przełomowych wyników (Radmanesh i wsp., 2015). Badania te potwierdziły jednak dziedziczne tło krwotoku (Devan i wsp., 2013). Wykazano także m. in. istnienie dwóch różnych regionów genomu mających związek z lokalizacją krwotoku śródmózgowego. Mianowicie, region 12q21.1 wiąże się ze zwiększonym ryzykiem krwotoku płatowego, a region 1q22 - krwotoku głębokiego (Woo i wsp., 2014).

Dodatkowych informacji na temat dziedzicznego tła krwotoku dostarczyło zastosowanie obu strategii badań genetycznych łącznie, tj. CGS i GWA. W jednym z badań analizowano polimorfizm zlokalizowany w obrębie genu receptora komplementu 1 (*CR1*), który w badaniu GWA był znacząco związany z ryzykiem choroby Alzheimera (rs6656401), a następnie z tej samej grupy pacjentów uczestniczących w badaniu GWA nad krwotokiem śródmózgowym wybrano tych, u których występował krwotok płatowy na podłożu angiopatii amyloidowej. Analizując rozkład poszczególnych alleli potwierdzono istnienie związku tego właśnie

polimorfizmu z ryzykiem nawracającego krwawienia w przebiegu angiopatii amyloidowej (Biffi i wsp., 2012).

Zarówno w projektowaniu, jak i w późniejszym interpretowaniu analiz typu CGS oraz GWAS ważna jest znajomość pewnych zasad rządzących tymi badaniami. Jednym z najważniejszych zaleceń jest zgromadzenie odpowiednio dużej grupy pacjentów oraz dopasowanie właściwej grupy kontrolnej. Jest to istotne, gdyż częstości występowania poszczególnych wariantów genetycznych mogą się różnić pomiędzy różnymi populacjami, nawet zamieszkującymi ten sam obszar. Przykładem może być malezyjskie badanie polimorfizmu genu *IL6* -174G>C. Stwierdzono w nim m. in., że częstość allelu C wynosiła 4% u rdzennych Malezyjczyków, 19% w tamtejszej populacji Indyjskiej, zaś zupełnie go nie odnotowano w populacji zamieszkujących Malezję osób pochodzenia chińskiego (Gan i wsp., 2013). Ponadto, oprócz różnic w częstości występowania w obrębie populacji, poszczególne polimorfizmy mogą mieć też w różnych populacjach odmienny wpływ na ryzyko wystąpienia choroby. Przykładem może być znaczenie wariantów genu *CRP* dla cukrzycy typu 2, która jest schorzeniem o wielogenowym sposobie dziedziczenia. W swojej pracy Zee i wsp. wykazali, że jeden z polimorfizmów (rs3093059) ma istotny związek z ryzykiem zachorowania na cukrzycę w populacji białej, ale nie obserwuje się tego wpływu dla rasy czarnej. Z kolei dla polimorfizmu rs2794521 zależność pomiędzy jego obecnością a chorobą jest odmienna: dodatnia u osób rasy czarnej, zaś brak u osób rasy białej (2007).

Ponadto, jeśli chodzi o odpowiednią liczebność analizowanych populacji, ogólną zasadą jest, że próba powinna być tym większa im mniejszy jest oczekiwany efekt określonej zmienności genetycznej. W dodatku, w badaniach GWA konieczne jest, w przeciwieństwie do CGS, proporcjonalne zwiększenie wielkości badanych grup w zależności od liczby analizowanych polimorfizmów.

Kolejnym zagadnieniem istotnym dla interpretacji otrzymanych wyników jest analiza zależności pomiędzy badanym polimorfizmem a miejscem zmienności genetycznej mającej rzeczywisty wpływ na patomechanizm choroby. Pomocne jest w tym przypadku pojęcie nierównowagi sprzężeń (LD, ang. *linkage disequilibrium*) pomiędzy badanym polimorfizmem a potencjalnym miejscem w obrębie genu odpowiedzialnym za fenotyp określonej choroby. LD jest terminem, który określa charakterystyczną dla danej populacji korelację pomiędzy

dwoma polimorfizmami pojedynczych nukleotydów najczęściej położonymi blisko siebie na tym samym chromosomie. Nierównowaga sprzężeń oznacza tym samym, że prawdopodobieństwo dziedziczenia dwóch polimorfizmów jest większe, niż wynikałoby to z czysto przypadkowego modelu dziedziczenia. Znajomość wielkości tego efektu jest istotna w analizie na ile korelujący z daną chorobą polimorfizm jest rzeczywiście zaangażowany w jej patogenezę, a na ile wskazuje tylko na znajdujący się w jego otoczeniu istotny dla tej choroby wariant genetyczny. Dobrym przykładem jest cytowana już powyżej praca Woo i wsp. (2014), w której wskazano region 1q22 chromosomu jako związany z krwotokiem. Sam region znajduje się w części niekodującej chromosomu, ale w silnej nierównowadze sprzężeń z genem *PMF1* odpowiedzialnym za produkcję białka sygnalizacji wewnątrzkomórkowej, związanego ze specyficznymi poliaminami, których udział w innych chorobach naczyniowych mózgu był już niejednokrotnie wykazywany (Carpenter i wsp., 2016).

Niniejsza praca jest w swoim założeniu badaniem typu CGS. Do analizy wybrano - na podstawie obecnego stanu wiedzy o patomechanizmie krwotoku śródmózgowego - cztery polimorfizmy pojedynczych nukleotydów, a badanie przeprowadzono na dwóch europejskich populacjach. Ponieważ tego rodzaju badania zawsze mają charakter pewnej selektywności, dlatego skoncentrowano się na mechanizmach istotnych dla patofizjologii rozwoju krwotoku śródmózgowego, czyli procesu zapalnego i czynności układu krzepnięcia.

Otrzymane w niniejszej pracy wyniki wskazują przede wszystkim na związek dwóch polimorfizmów związanych ze stanem zapalnym z ryzykiem wystąpienia krwotoku śródmózgowego.

W przypadku polimorfizmu *FGB* -455G>A nie wykazano zależności pomiędzy poszczególnymi genotypami, a ryzykiem krwotoku śródmózgowego w żadnej z analizowanych populacji: polskiej oraz greckiej, także po uwzględnieniu lokalizacji krwawienia. Polimorfizm ten znajduje się w obrębie regionu promotorowego genu łańcucha beta fibrynogenu i ma dobrze udowodniony związek z podwyższonym stężeniem produktu białkowego (de Maat i wsp., 1998). Jest on też w silnej nierównowadze sprzężeń z innym istotnym klinicznie polimorfizmem tego genu, tj. 448Arg>Lys (Baumann i wsp., 1994). Potencjalnym mechanizmem wpływu polimorfizmu *FGB* -455G>A na ryzyko choroby jest wzrost stężenia fibrynogenu, który jest istotnym regulatorem lepkości krwi, funkcji kaskady krzepnięcia, a

także moduluje aktywność śródbłonna naczyniowego oraz stymuluje proliferację i migrację mięśniówki gładkiej ścian naczyń (Danesh i wsp., 2005). Ponadto, wzrost stężenia fibrynogenu zmienia strukturę i właściwości skrzepu fibrynowego - zmniejsza jego przepuszczalność oraz powoduje powstawanie silniejszych wiązań między łańcuchami i mniejszą podatność na lizę. Pomimo dobrze opisanego działania na poziomie komórkowym, udowodniono niewiele związków polimorfizmu z określonymi chorobami (Zhang i wsp., 2013). Wykazano, że polimorfizm ten jest niezależnym czynnikiem ryzyka dla choroby niedokrwiennej serca, ostrych zespołów wieńcowych oraz miażdżycy naczyń obwodowych (de Maat i wsp., 1998; Behague i wsp., 1996; Green, 2001; Rothwell i wsp., 2004). Ponadto, w badaniu fińskim wykazano, że może on zwiększać ryzyko udaru niedokrwinnego u starszych kobiet rasy kaukaskiej (Martiskainen i wsp., 2014).

Drugi z analizowanych polimorfizmów, tj. polimorfizm czynnika XIII *F13A1* Val34Leu (G>T) w populacji polskiej był związany ze większym ryzykiem krwawienia śródmózgowego: genotypy TT i GT w porównaniu z genotypem GG nasilały ryzyko krwotoku śródmózgowego. Sugeruje to, że obecność podjednostki czynnika XIII z waliną w miejscu leucyny może istotnie zmniejszać prozakrzepową funkcję tego białka. Nie stwierdzono natomiast podobnego efektu w populacji greckiej.

Czynnik XIII łączy krzyżowo fibrynę powstałą z fibrynogenu w procesie aktywacji enzymatycznej pod wpływem trombiny. Sam czynnik XIII występuje w dwóch formach: tetramerycznej oraz dimerycznej zarówno w osoczu, jak i w płytkach krwi, a tworzenie formy aktywnej także zachodzi w wyniku aktywności trombiny. Główną funkcją czynnika XIII jest tworzenie wiązań krzyżowych pomiędzy łańcuchami fibryny, inicjując tym samym tworzenie, jak i nadając ostateczny kształt i formę skrzepu fibrynowego. Obecność polimorfizmu Val34Leu, zlokalizowanego blisko miejsca enzymatycznego rozszczepienia, znacząco zwiększa szybkość aktywacji czynnika XIII przez trombinę, a co za tym idzie szybkość tworzenia skrzepu (Trumbo i Maurer, 2000; Schroeder i wsp., 2001). Zostało to potwierdzone w doświadczeniach przeprowadzonych *in vivo* na modelu mysim. Wykazano, że zmiana w pozycji 34 peptydu jest kluczowa dla interakcji czynnika XIII z trombiną i skutkuje szybszym tworzeniem wiązań krzyżowych, przy czym nie zwiększa rozmiaru skrzepu (Duval i wsp., 2016). Zjawisko to oraz przedwczesne wyczerpanie peptydu na skutek przyśpieszenia

procesów enzymatycznych i szybszego zużycia substratów, prawdopodobnie odpowiedzialne są za kardioprotekcyjny efekt badanego polimorfizmu (Trumbo i Maurer, 2000). W wielu pracach wykazano, że polimorfizm ten istotnie zmniejsza ryzyko zawału mięśnia sercowego (Kohler i wsp., 1998; Wartiovaara i wsp., 1999; Gemmati i wsp., 2001). Dostępne są jednak pojedyncze doniesienia o braku takiego efektu (Warner i wsp., 2001). Także w niniejszej pracy w dwóch zastosowanych modelach (recesywnym i addytywnym) pojawił się trend wskazujący na związek tego polimorfizmu ze zwiększonym ryzykiem krwotoku śródmózgowego w populacji polskiej.

Kolejne dwa polimorfizmy, których znaczenie analizowano w niniejszej pracy, są bezpośrednio związane z reakcją zapalną. Jeśli chodzi o polimorfizm *CRP* +1444C>T to obecność genotypu TT była związana z istotnym zmniejszeniem ryzyka krwotoku śródmózgowego, zwłaszcza zlokalizowanego płatowo. W populacji polskiej posiadanie genotypu z co najmniej jednym allelem T tego polimorfizmu zmniejszało ryzyko krwotoku w ogóle około trzykrotnie, zaś w krwotoku płatowego nawet pięciokrotnie. Jednak w populacji greckiej nie stwierdzono wpływu tego polimorfizmu na ryzyko krwotoku.

Nie jest to polimorfizm, który bezpośrednio wpływa na aktywność białka CRP poprzez modyfikację jego struktury. Jest on zlokalizowany w obszarze 3' genu nie ulegającym translacji. Najbardziej prawdopodobnym wydaje się efekt polimorfizmu wynikający z modulacji ekspresji produktu białkowego. Istotnie, w wielu badaniach opisano związek genotypu TT z podwyższonym stężeniem CRP w osoczu (Brull i wsp., 2003; Marsik i wsp., 2006). Chociaż zależności tej nie potwierdziło duże (1332 badanych) badanie fińskie (Kettunen i wsp., 2011). Być może wynika to z faktu, że obydwa badania z pozytywnymi wynikami zostały przeprowadzone na stosunkowo niewielkich (odpowiednio 250 i 91 osobowych) grupach męskich ochotników, zaś w populacji mieszanej, a tak sytuacja miała miejsce w badaniu fińskim, znaczenie może mieć także zmienność stężenia CRP zależna od cyklu miesięcznego (Rudnicka i wsp., 2007).

Paradoksalnie, wysokie stężenie wyjściowe CRP nie przekłada się bezpośrednio na większe nasilenie reakcji zapalnej. Przeciwnie, ponieważ w odpowiedzi na bodźce stymulujące reakcję zapalną względna zmiana stężenia CRP jest relatywnie niewielka, w efekcie obserwuje się niski wzrost stężenia zależnej od CRP IL-6 oraz innych cytokin. Dlatego też

genotyp TT tego polimorfizmu jest określany jako posiadający efekt przeciwzapalny (Marsik i wsp., 2006).

Szukając wyjaśnienia w jaki sposób wyciszający reakcję zapalną efekt polimorfizmu wywiera protekcyjny wpływ na ryzyko krwotoku płatowego należy zauważyć, że angiopatia amyloidowa jest odpowiedzialna za około 20% wszystkich krwotoków śródmózgowych (Meretoja i wsp., 2012), głównie o płatowej lokalizacji (Greenberg i wsp., 2004). Ponadto, jak już wspomniano wyżej, w swojej pracy Eng i wsp. wykazali, że to okołonacyniowy proces zapalny towarzyszący odkładaniu złogów amyloidu ma istotne znaczenie dla uszkodzenia ściany naczynia i możliwych tego następstw (2004). Strang i wsp. (2011) udowodnili *in vitro*, że obecność płytek beta-amyloidu nasila dysocjację pentamerów CRP do aktywnych prozapalnych monomerów - powodując wzrost intensywności okołonacyniowego procesu zapalnego. Z kolei *in vivo* w modelu zwierzęcym (Bulbarelli i wsp., 2012) wykazano, że w komórkach mózgu szczurów stres oksydacyjny towarzyszący stanowi zapalnemu może powodować wzrost produkcji amyloidu oraz upośledzać jego usuwanie. Także Slevin i wsp., wykazali zarówno w badaniach *in vivo* i *in vitro*, że wyższe stężeniem monomerów CRP w silny sposób indukuje tworzenie się amyloidu (2015). Dodatkowym argumentem przemawiającym za udziałem cząsteczek stanu zapalnego w procesie odkładania się amyloidu jest fakt, że CRP, podobnie jak osoczowy amyloid P, będący jednym z prekursorowych białek amyloidowych, należy do grupy pentamerycznych białek nazwanych pentraksynami. Podobieństwo w budowie tych białek pozwala podejrzewać, że białko C-reaktywne ma także swój udział w tworzeniu struktury płytek amyloidowych, między innymi w przebiegu angiopatii amyloidowej czy też w chorobie Alzheimera (McGeer i wsp., 2001; Kok i wsp., 2011).

Z drugiej strony, CRP ma silny wpływ na zwiększenie syntezy enzymów z grupy metaloproteinaz, szczególnie aktywnych w procesie zapalnym (Zeng i wsp., 2005). Białka te mają udowodnione działanie nie tylko w degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej, ale też w usuwaniu płytek amyloidu, co przemawia za udziałem molekuł stanu zapalnego zarówno w tworzeniu, jak i destrukcji struktur amyloidowych (Yan i wsp., 2006).

Tak więc, można przypuszczać, że polimorfizm CRP o działaniu przeciwzapalnym działa ochronnie, zmniejszając ryzyko krwotoku śródmózgowego płatowego, właśnie dzięki

wyciszeniu reakcji zapalnej wokół ścian naczyń dotkniętych angiopatią amyloidową - częściej przyczyny nawracających krwotoków o płatowej lokalizacji.

W przypadku polimorfizmu *IL6* -174G>C, interpretacja otrzymanych wyników jest znacznie trudniejsza. W populacji polskiej nie wykazano zależności pomiędzy polimorfizmem *IL6* -174G>C, a krwotokiem śródmózgowym. Natomiast w populacji pacjentów greckich z krwotokiem śródmózgowym genotyp CC okazał się być czynnikiem protekcyjnym - zmniejszał ryzyko krwotoku. Jednak analiza po podziale pacjentów z krwotokiem ze względu na umiejscowienie krwawienia na lokalizację płatową i głęboką ujawniła dwie przeciwstawne tendencje. Mianowicie, wśród pacjentów z krwotokiem głębokim obecność allelu C miała właściwości protekcyjne, zarówno w genotypie CC i CG. Z kolei w grupie pacjentów z płatowym krwotokiem genotyp CC prawie dwukrotnie zwiększał ryzyko zachorowania w porównaniu z resztą pacjentów.

Analizowany polimorfizm znajduje się w obrębie regionu 5' flankującego genu *IL6*. Zgodnie z wynikami większości badań powoduje on zwiększenie poziomu transkrypcji *IL-6* (Fishman i wsp., 1998; Terry i wsp., 2000; Vickers i wsp., 2002). Według najwcześniejszych doniesień, opartych o badania *in vitro* (Fishman i wsp., 1998), obecność allelu C miała korelować z obniżonym osoczym stężeniem *IL-6*. Jednak późniejsze publikacje wykazywały wyższe stężenie krążącej *IL-6* u posiadaczy allelu C (Bruunsgaard i wsp., 2004; Walston i wsp. 2007). Ta rozbieżność może wynikać z trudności w pomiarze stężenia *IL-6* w osoczu, gdyż okres półtrwania tej cząsteczki wynosi około 2 godzin (Basso i wsp., 2002; Bennermo i wsp., 2004). Należy także pamiętać o znacznej dobowej zmienności stężenia *IL-6* (Nilssonne i wsp., 2016), zależności stężenia *IL-6* od wieku (Wei i wsp., 1992; Ferrucci i wsp., 2005), ale także diety (Esposito i wsp., 2004) oraz aktywności fizycznej (Elosua i wsp., 2005). Natomiast bezsporny wydaje się fakt wpływu tego polimorfizmu na podwyższone stężenie CRP w osoczu, co wynika zapewne ze stymulującego wpływu *IL-6* na stężenie CRP (Humphries i wsp., 2001; Sie i wsp., 2006)

W przypadku krwotoków śródmózgowych płatowych polimorfizm *IL6* -174G>C ma efekt przeciwny, niż omawiany wyżej polimorfizm *CRP* +1444C>T. Mianowicie, genotyp CC zwiększa prawie dwukrotnie ryzyko krwotoku śródmózgowego płatowego. W świetle przedstawionych rozważań dotyczących przeciwzapalnego charakteru polimorfizmu genu

CRP, należałoby założyć zatem, że powyższy polimorfizm *IL6* mediujący stężenie IL-6 wywiera z kolei silny efekt prozapalny. W celu analizy mechanizmów tego efektu można zastosować obserwacje dotyczące wpływu procesu zapalnego oraz udziału IL-6 na przebieg choroby Alzheimera. Tworzenie blaszek amyloidowych, kluczowe zarówno w chorobie Alzheimera jak i w angiopatii amyloidowej, jest silnie zależne od procesu zapalnego i mediowane przez podobne mechanizmy.

Jednego z najistotniejszych dowodów na rolę komponenty zapalnej, dostarcza obserwacja dotycząca protekcyjnego wpływu leków przeciwzapalnych na rozwój choroby Alzheimera (Breitner i wsp., 1994). W większości prac analizujących patogenezę choroby Alzheimera na poziomie molekularnym, postuluje się istnienie dodatnie sprzężonej reakcji zwrotnej (Ringheim i wsp., 1998), w której stan zapalny, między innymi poprzez wzrost stężenia cytokin mikrogleju, w tym m. in. IL-6, nasila tworzenie blaszek amyloidowych. Ich obecność z kolei potęguje lokalny stan zapalny, także poprzez zwiększanie lokalnego stężenia CRP (Huell i wsp., 1995; Strang i wsp., 2012; Slevin i wsp., 2015). Niestety, na poziomie badań klinicznych opublikowane dotychczas prace dostarczają sprzecznych informacji. Z jednej strony, w populacji włoskiej i japońskiej polimorfizm *IL6* -174G>C wiązał się ze zwiększonym ryzykiem choroby Alzheimera (Pola i wsp., 2002; Shibata i wsp., 2002). Z drugiej strony, są też prace w których nie potwierdzono istnienia takiej zależności bądź miała ona kierunek przeciwny (Bagli i wsp. 2000; Faltraco i wsp., 2003; Ravaglia i wsp., 2006). Powyższe rozbieżności można tłumaczyć obserwacjami z badań *in vivo* na modelu myszy sugerującymi, że proces zapalny mediowany przez IL-6, oprócz tworzenia złogów amyloidu, przyczynia się także do ich usuwania, między innymi drogą fagocytozy, z przestrzeni zewnątrzkomórkowej (Chakrabarty i wsp., 2010). Podsumowując, rozbieżności prezentowanych wyników mogą wynikać z jednej strony z złożoności poszczególnych etapów procesu zapalnego, z drugiej strony zaś z plejotropowego efektu działania samej IL-6. Stąd też oddziaływanie procesu zapalnego oraz IL-6 na beta amyloid zależy od kontekstu współdziałających z nią cytokin, stopnia ekspresji i budowy receptora, oraz uruchomionych wewnątrzkomórkowych ścieżek sygnału (Scheller i wsp., 2011).

Próbując zrozumieć działanie protekcyjne allelu C polimorfizmu *IL6* -174G>C na ryzyko krwotoków zlokalizowanych głęboko, należy pamiętać, że w dużej mierze rozwijają się one

na podłożu klinicznie niemych mikrokrwotoków śródmózgowych. Są one jednym z przejawów postępu i nasilenia choroby małych naczyń mózgowych. Istnieje wyraźna korelacja pomiędzy występowaniem choroby małych naczyń, zwłaszcza rozwijającej się w przebiegu nadciśnienia tętniczego, a obecnością głębokich krwotoków śródmózgowych (Tanaka i wsp., 1999; Pantoni, 2010). Monitorowanie nasilenia, postępu oraz lokalizacji zmian w toku choroby małych naczyń jest możliwe radiologicznie, głównie przez ocenę będącej ekwiwalentem leukoarajozji hiperintensywności istoty białej (WMH, ang. *white matter hyperintensity*) (Rost i wsp., 2010; Charidimou i wsp., 2016). Istnieją dowody wiążące te zmiany i ich natężenie z mediatorami stanu zapalnego. Mianowicie, w badaniu Fornage i wsp. stwierdzono znamiennej korelację pomiędzy stężeniem zarówno IL-6, jak i CRP, a częstością występowania zmian istoty białej. Co więcej, w badaniu tym wykazano także istotną dodatnią zależność pomiędzy nasileniem zmian istoty białej a obecnością allelu C polimorfizmu *IL6* -174G>C. Zależność ta utrzymuje się nawet po standaryzacji względem stężenia IL-6, co może wskazywać, że polimorfizm ten jest niezależnym czynnikiem choroby małych naczyń (2008). W przypadku CRP z kolei, wykazano co prawda zależność pomiędzy stężeniem CRP a obecnością i progresją zmian w istocie białej (van Dijk i wsp., 2005), ale już analiza najczęstszych haplotypów, w tym także haplotypu zawierającego polimorfizm *CRP* +1444 C>T, nie przyniosła istotnych statystycznie rezultatów (Reitz i wsp., 2007). Może to być związane z faktem, że stężenie CRP jest zależne od wielu czynników i nie zależy tylko od komponenty genetycznej (van Dijk i wsp., 2005). Ważnego dowodu na protekcyjny charakter stanu zapalnego wobec ryzyka krwawienia na poziomie małych naczyń dostarczają badania patomorfologiczne tych jednostek chorobowych, w których choroba małych naczyń ma szczególnie nasiloną komponentę zapalną - takich, jak ziarniniakowatość Wegenera czy zespół Churga-Strauss. W obu tych chorobach dochodzi do przebudowy i znacznego pogrubienia ścian naczyń, co powoduje raczej ich zwężenie, zaś zmniejsza ryzyko ich pęknięcia i krwawienia (Rosenberg, 2009; Pantoni, 2010).

Podsumowując powyższe obserwacje, dla obydwóch polimorfizmów stanu zapalnego zachodzą przesłanki do sformułowania hipotezy: reakcja zapalna zmniejsza ryzyko krwotoków zlokalizowanych głęboko poprzez nasilenie przebudowy ścian małych naczyń mózgowych - do tego skłania analiza polimorfizmu genu *IL6*, oraz zwiększa ryzyko krwotoków

zlokalizowanych płatowo - nasilając uszkodzenia powodowane przez angiopatię amyloidową - taka prawidłowość zachodzi zarówno w przypadku polimorfizmu genu *CRP* raz genu *IL6*.

Analizując znaczenie poszczególnych polimorfizmów dla ryzyka krwotoku śródmózgowego należy też pamiętać o roli czynników geograficznych i etnicznych, które mają wpływ na wynik i interpretację wyników badań przeprowadzanych w poszczególnych, niejednokrotnie istotnie różnych od siebie, populacjach.

Na przykład, dla polimorfizmu *FGB* -455G>A raportowano zmienność częstości występowania od 20% w rasie białej i azjatyckiej do 7% w rasie czarnej (Albert i wsp., 2009). Różnice te korelowały także z stężeniem fibrynogenu. Istnieje tylko jedno badanie w populacji chińskiej, w którym wykazano związek pomiędzy haplotypem obejmującym ten polimorfizm a ryzykiem samoistnego krwotoku śródmózgowego (Zeng i wsp., 2012). Niemniej, w innym badaniu analizującym polimorfizm *FGA* Thr213Ala łańcucha alfa fibrynogenu, o udowodnionym wpływie na strukturę skrzepu fibrynowego, wykazano korelację pomiędzy polimorfizmem a krwotokiem śródmózgowym w populacji polskiej, które to wyniki nie potwierdziły się w populacji greckiej (Jagiella i wsp., 2014).

Podobnie polimorfizm *F13A1* Val34Leu cechuje znaczna heterogenność etniczna. W dwóch dużych badaniach wykazano zmienność jego występowania od 44% w populacjach pochodzenia kaukaskiego do 2,5% w populacjach azjatyckich (Attie-Castro i wsp., 2000; Mahfouz i wsp., 2008). Jeśli chodzi o wpływ tego polimorfizmu na ryzyko krwotoku śródmózgowego, to zgromadzone dane są dość niejednoznaczne. Dotychczasowe badania przyniosły sprzeczne wyniki (Cato i wsp., 1998; Corral i wsp., 2000; Gemmati i wsp., 2001; Endler i wsp., 2003), ale były przeprowadzone na niewielkich grupach pacjentów (odpowiednio w pierwszym - 62, w drugim - 116, w trzecim - 130, a w czwartym - 98 osób). W jeszcze innym badaniu, w którym analizowano tylko krwotoki śródmózgowe o śmiertelnym przebiegu, wykazano dodatni związek pomiędzy genotypem TT badanego polimorfizmu (na poziomie fenotypowym skutkującym obecnością leucyny w miejscu polimorfizmu) a ryzykiem krwotoku śródmózgowego (Antalfi i wsp., 2013). Wspomnieć należy także o badaniu opublikowanym w 2001 roku, które analizowało możliwe markery podatności na krwotok śródmózgowy u młodych kobiet (poniżej 45 roku życia) wśród polimorfizmów genu czynnika XIII. Choć nie wykazano w nim związku pomiędzy

polimorfizmem *F13A1 Val34Leu*, to obecność dwóch innych polimorfizmów (*Tyr204Phe* oraz *Pro564Leu*) okazała się mieć związek z ryzykiem krwotoku śródmózgowego (Reiner i wsp., 2001). W kontekście prezentowanych w tej pracy wyników badań trzeba też odnotować przeprowadzone na niewielkiej populacji (64 pacjentów) badanie, w którym oprócz wpływu polimorfizmu *F13A1 Val34Leu* na zapadalność na chorobę małych naczyń, analizowano także wpływ tego polimorfizmu na pierwotny krwotok śródmózgowy. Badanie to nie wykazało różnicy w rozkładzie genotypów pomiędzy pacjentami a osobami z grupy kontrolnej (Słowik i wsp., 2005). Z uwagi na wspomnianą już dużą etniczną zmienność występowania omawianego polimorfizmu w zależności od grupy etnicznej (w Europie genotyp GG występuje u 56-57% populacji, zaś w Azji u 98-100%), wspomnieć też warto o niewielkim liczebnie badaniu (58 pacjentów) przeprowadzonym w Korei, w którym także nie wykazano istotnego wpływu badanego polimorfizmu na ryzyko pierwotnego krwotoku śródmózgowego (Cho i wsp., 2002). Podsumowując, dla polimorfizmu czynnika XIII istnieje znaczna liczba, częściowo sprzecznych ze sobą, badań. Próba usystematyzowania tych informacji była metaanaliza wykonana przez Peck i wsp., w której wykazano brak istotności statystycznej pomiędzy analizowanym polimorfizmem a ryzykiem zachorowania na krwotok śródmózgowy (2008). Niemniej, autorzy zwrócili uwagę na ograniczenia wynikające z małej liczebności grup pacjentów w dużej liczbie badań, które uwzględniono w analizie.

W przypadku polimorfizmów genu *CRP* dobrze udokumentowanym przykładem ich zmienności są dwie różne afrykańskie populacje: Fulani i sympatryczna populacja zamieszkująca ten sam teren. W badaniu Israelsson i wsp. wykazano, że liczne polimorfizmy w obrębie sekwencji promotorowej tego genu mają w obu populacjach znacząco różny rozkład. Co więcej, ta zmienność ma wpływ i na stężenie CRP, i podatność na malarię (2009). Najbardziej wyczerpującej analizy zmienności populacyjnej dostarczyli Crawford i wsp., którzy przeanalizowali zmienność poszczególnych polimorfizmów *CRP* w około 1000 chromosomów pochodzących z różnych populacji (2006). Jednak, jeżeli chodzi o polimorfizm +1444C>T, to publikowane do tej pory wyniki badań nie dostarczyły przekonujących danych na temat ewentualnego wpływu na zapadalność na krwotok śródmózgowy. W jedynym dotychczas przeprowadzonym wśród chorych z północnej Szwecji prospektywnym badaniu kliniczno-kontrolnym z niewielką liczbą chorych na krwotok śródmózgowy (n=61;

z 735-osobową grupą kontrolną) nie wykazano związku pomiędzy analizowanym polimorfizmem a ryzykiem krwotoku śródmózgowego (Andersson i wsp., 2009).

Podobnie, jak w powyżej omawianych przypadkach, także rozkład polimorfizmu *IL6* -174G>C charakteryzuje duża zmienność geograficzna. O ile w populacjach azjatyckich, np. chińskiej lub japońskiej, allel G występuje niezmiernie rzadko (Zhai i wsp., 2001; Nakajima i wsp., 1999), to w populacjach europejskich częstość jego występowania sięga 40-50% (Fishman i wsp. 1998; Bagli i wsp., 2000; Zheng i wsp., 2000; Hulkkonen i wsp., 2000). Zbliżone wartości otrzymano także w niniejszej pracy - częstość odnotowana w populacji polskiej (ok. 40%) była znacznie większa niż w populacji greckiej (ok. 25%). Dla polimorfizmu *IL6* -174G>C jedyne przeprowadzone do tej pory niewielkie badanie analizujące ryzyko chorób naczyniowych mózgu wykonane w Szwecji (Strand, 2007) nie wykazało relacji pomiędzy polimorfizmem genu *IL6* a ryzykiem udaru, ani żadnego jego podtypu, w tym też krwotoku śródmózgowego (n=61, 773 osób w grupie kontrolnej).

Wiele z dotychczas przeprowadzonych i przedstawionych powyżej badań w zakresie związków badanych polimorfizmów z krwotokiem śródmózgowym było pojedynczymi badaniami w obrębie jednej populacji, z zazwyczaj niewielkimi (w większości <100 osób) grupami osób chorych. W większości badań sygnalizowano potrzebę dalszych prac opartych na większych grupach pacjentów oraz zdrowych osób w grupie kontrolnej, a także sugerowano potrzebę porównania otrzymanych wyników w co najmniej dwóch populacjach.

W prezentowanej tutaj pracy wykonano analizę opartą o materiał z dwóch różnych populacji europejskich. Według większości opracowań poświęconych różnorodności genetycznej, bazujących na analizie dużej ilości SNP, w Europie stopień zróżnicowania genetycznego jest na ogół proporcjonalny do geograficznej odległości pomiędzy populacjami (Novembre i wsp., 2008, Tian i wsp., 2009), ale też wynika z wypadkowej dryfów genetycznych populacji europejskich (Lao i wsp., 2008). Można zatem przyjąć, że wybór populacji greckiej do replikacji wyników z populacji polskiej spełnia kryterium odmienności genetycznej. Podobnych dowodów dostarczają analizy wariantów genetycznych innych genów w populacjach europejskich, jak choćby genu *BRCA1* (Hamel i wsp., 2011).

W przypadku analizowanych w niniejszej pracy polimorfizmów dostępne są publikacje wykazujące ich zmienność populacyjną oraz odmienny, zależny od kontekstu otoczenia wpływ na inne schorzenia o postulowanej komponente genetycznej.

Jeśli chodzi o polimorfizmy związane z układem krzepnięcia, to w populacji greckiej w badaniu Satra i wsp., stwierdzono - nie opisywany w innych populacjach - wpływ polimorfizmu *F13A1* Val34Leu na ryzyko zawału i stopień perfuzji mięśnia sercowego (2011). Także w populacji greckiej opisano protekcyjny wpływ polimorfizmów genu łańcucha beta fibrynogenu (sąsiadujących z omawianym powyżej polimorfizmem *FGB* -455G>A) na ryzyko choroby wieńcowej, podczas, gdy takiego związku nie stwierdzono w populacji polskiej (Sakowicz i wsp., 2013).

Przykładem na wpływ czynnika etnicznego i geograficznego w zakresie polimorfizmów genów związanych reakcją zapalną, jest też badanie Rhodes i wsp. na populacji filipińskiej, w której polimorfizm *CRP* +1444C>T miał związek z toczniem rumieniowatym trzewnym (2008). W podobnym badaniu Wipff i wsp. w populacji francuskiej już takiego związku pomiędzy tym polimorfizmem a chorobami autoimmunizacyjnymi nie stwierdzono (2014). Z istotniejszych badań, warto wspomnieć także o fińskim badaniu wykazującym związek tego polimorfizmu z chorobami sercowo-naczyniowymi (Silander i wsp., 2008).

Podobnie jest w przypadku polimorfizmu *IL6* -174C>G, dla którego opisano związek z zespołem nagłego zgonu niemowląt w populacji australijskiej, ale nie potwierdzono go w populacji norweskiej (Opdal i wsp., 2007). Z kolei w badaniu omawianych polimorfizmów genów *CRP* i *IL6* przez Ognjanovic i wsp., w wieloetnicznej populacji opisano różne dystrybucje genotypów oraz zmienny wkład w ryzyko zachorowania na gruczolaka okrężniczo-odbytniczego (2010).

Jeśli chodzi o niniejsze badanie, to jego istotną zaletą jest liczebność grup pacjentów oraz grup kontrolnych pochodzących z dwóch różnych populacji europejskich. W obydwóch przypadkach przekraczała ona znacznie 200 osób. Zgromadzono także bogate fenotypowe bazy danych obejmujące m. in. czynniki ryzyka, lokalizację krwotoku oraz przebieg kliniczny choroby. Należy też podkreślić, że w pracy tej, w przeciwieństwie do cytowanych powyżej badań, analizowano też związek poszczególnych polimorfizmów z krwotokiem

śródmózgowym uwzględniając jego, płatową albo głęboką, lokalizację. Nieliczne prace, w których brano pod uwagę lokalizację krwotoku śródmózgowego przemawiają za istnieniem pewnych różnic w patofizjologii krwotoków głęboki i płatowych. Na przykład w badaniu dotyczącym polimorfizmu genu peroksydazy glutationowej 1 (*GPX1*) - enzymu mediującego stres oksydacyjny, wykazano związek polimorfizmu z płatowym krwotokiem śródmózgowym (Pera i wsp., 2008). Z kolei w badaniach polimorfizmów genów metaloproteinaz (Chen i wsp., 2015; Ho i wsp., 2015) i genu czynnika martwicy nowotworów alfa TNF- α (*TNFA*) - cząsteczki mediującej między innymi przebieg stanu zapalnego (Chen i wsp., 2010) - wykazano ich związek z głęboko zlokalizowanym krwotokiem śródmózgowym.

Niniejsza praca posiada też pewne ograniczenia. Po pierwsze, z uwagi na zastosowane metody efektywność oznaczeń polimorfizmów była zmienna, co spowodowało, że grupy porównywane w poszczególnych analizach nieznacznie różniły się liczebnością. Wydaje się jednak, że przy otrzymanych wartościach mogło to mieć raczej niewielki wpływ na otrzymane wyniki częstości występowania poszczególnych genotypów i alleli. Po drugie, w populacji polskiej rozkład wieku w grupie pacjentów i w grupie kontrolnej różnił w sposób istotny statystycznie, co w niektórych sytuacjach może mieć wpływ na końcowy wynik. W dwóch badaniach polimorfizmu *IL6* -174G>C wykazano, że rozkład, a zarazem otrzymane wyniki mogą zależeć od grupy wiekowej (Jenny i wsp., 2002; Antonicelli i wsp., 2005). Przy czym w analizie statystycznej otrzymanych wyników metodą regresji logistycznej ten fakt został uwzględniony i skorygowany. Warto zauważyć także, że w przypadku polimorfizmów genów *IL6* oraz *F13A1* istotne statystycznie wyniki otrzymano dopiero po zastosowaniu analizy wieloczynnikowej metodą regresji logistycznej. Może to świadczyć o tym, że niektóre czynniki ryzyka, w tym głównie nadciśnienie tętnicze, maskują efekt wpływu polimorfizmów na ryzyko krwotoku, który ujawnia się dopiero po standaryzacji otrzymanych rezultatów.

Podsumowując otrzymane w niniejszej pracy wyniki, warto zauważyć, że są one jednymi z nielicznych pozytywnych badań dotyczącymi polimorfizmów genu *CRP* oraz *IL6*. Z kolei dodatni wynik badania polimorfizmu genu *F13A1* należy interpretować w kontekście poprzednich, niejednoznacznych wyników badań. Należy też podkreślić, że żaden z otrzymanych wyników nie został potwierdzony się w drugiej z analizowanych populacji, co

wydaje się mieć związek z różnicami genetycznymi w dystrybucji poszczególnych wariantów haplotypów w obrębie badanych populacji.

6. Wnioski

1.

W populacji polskiej związek genotypu AA polimorfizmu *FGB* -455G>A (rs1800790) ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na krwotok śródmózgowy w ogóle (w modelu dominującym) i krwotok zlokalizowany głęboko (w modelu dominującym i addytywnym) był obecny tylko w analizie jednoczynnikowej. Analiza wieloczynnikowa nie potwierdziła takiej zależności. Podobnie, allel A jako czynnik ryzyka krwotoku głębokiego został zidentyfikowany tylko w analizie jednoczynnikowej. W populacji greckiej nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy badanym polimorfizmem a ryzykiem krwotoku śródmózgowego.

2.

W populacji polskiej związek genotypu TT (Leu) polimorfizmu *F13A1* Val34Leu (rs5985) ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na krwotok śródmózgowy w ogóle (w modelu recesywnym i addytywnym) był obecny w analizie wieloczynnikowej. W populacji greckiej nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy badanym polimorfizmem a ryzykiem krwotoku śródmózgowego.

3.

W populacji polskiej związek genotypu TT polimorfizmu *CRP* +1444C>T (rs1130864) ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na krwotok śródmózgowy w ogóle (w modelu dominującym i addytywnym) oraz krwotok zlokalizowany płatowo (w modelu dominującym) był obecny w analizie jednoczynnikowej, a także (w modelu dominującym) w analizie wieloczynnikowej. Natomiast allel T jako czynnik ryzyka krwotoku śródmózgowego w ogóle został zidentyfikowany tylko w analizie jednoczynnikowej. W populacji greckiej nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy badanym polimorfizmem a ryzykiem krwotoku śródmózgowego.

4.

W populacji polskiej nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy polimorfizmem *IL6* -174G>C (rs1800795) a ryzykiem krwotoku śródmózgowego. W populacji greckiej związek genotypu CC ze zmniejszonym ryzykiem zachorowania na krwotok śródmózgowy

zlokalizowanym głęboko (w modelu dominującym i addytywnym) był obecny w analizie jednoczynnikowej, zaś dla krwotoku śródmózgowego w ogóle (w modelu recesywnym) oraz zlokalizowanego głęboko (w modelu recesywnym i addytywnym) był też obecny w analizie wieloczynnikowej. Jednocześnie ten sam genotyp wiązał się ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na krwotok zlokalizowany płatowo (model dominujący) w analizie wieloczynnikowej. Allel C jako czynnik zmniejszający ryzyko krwotoku głębokiego został zidentyfikowany w analizie jedno- i wieloczynnikowej.

7. Streszczenie w języku polskim

Wstęp:

Krwotok śródmózgowy cechuje złe rokowanie pod względem śmiertelności i stopnia późnej niepełnosprawności. Oprócz licznych udokumentowanych czynników, znaczny i w dużej mierze jeszcze niepoznany, wpływ na ryzyko krwotoku śródmózgowego ma zmienność genetyczna. Opublikowane dotychczas prace wykazały związek pomiędzy właściwościami skrzepu fibrynowego oraz intensywnością przebiegu reakcji zapalnej na ryzyko powstania krwotoku śródmózgowego. Zarówno tworzenie skrzepu, jak i proces zapalny są w dużej mierze zależne od polimorfizmów pojedynczych nukleotydów w obrębie genów zaangażowanych w te procesy.

Cel badania:

Głównym celem niniejszej pracy była odpowiedź na pytanie o związek pomiędzy wybranymi polimorfizmami genów czynników krzepnięcia i mediatorów stanu zapalnego a ryzykiem pierwotnego krwotoku śródmózgowego, w zależności od lokalizacji, w dwóch populacjach europejskich. Analizowane były następujące polimorfizmy: *FGB* -455G>A, *F13A1* Val34Leu, *CRP* +1444C>T, *IL6* -174G>C. W przypadku każdego z tych polimorfizmów badano też wpływ innych czynników ryzyka krwotoku śródmózgowego na wyżej wymienione zależności.

Materiał i metody:

Badanie zostało przeprowadzone równolegle w dwóch europejskich populacjach: polskiej i greckiej. W grupie polskiej badania wzięło udział 245 pacjentów z rozpoznaniem pierwotnego krwotoku śródmózgowego oraz 422 osoby wchodzące w skład grupy kontrolnej. W grupie greckiej badania wzięło udział 250 pacjentów z rozpoznaniem pierwotnego krwotoku śródmózgowego oraz 250 osób wchodzące w skład grupy kontrolnej.

Od uczestników badania zbierano informacje obejmujące dane demograficzne, dane o naczyniowych czynnikach ryzyka, chorobach współistniejących oraz wywiad rodzinny, a także dane na temat przebiegu choroby i stopnia niepełnosprawności pacjenta w dniu wypisu chorych ze szpitala. Lokalizację krwotoku śródmózgowego oceniano przy pomocy: TK głowy, angio-TK, angio-RM oraz DSA.

Genotypowanie wykonano przy użyciu reakcji polimerazy łańcuchowej w czasie rzeczywistym (RT-PCR). Wpływ poszczególnych genotypów badanych polimorfizmów na ryzyko zachorowania na pierwotny krwotok śródmózgowy, także z uwzględnieniem jego lokalizacji, analizowano w każdym przypadku kolejno w trzech modelach: dominującym, recesywnym i addytywnym. W celu weryfikacji czy badane polimorfizmy są niezależnymi czynnikami ryzyka krwotoku śródmózgowego wykonano wieloczynnikową analizę metodą regresji logistycznej uwzględniającą wiek, płeć oraz zmienne, dla których rozkład był zmienny w populacji chorych z udarem krwotocznym i osób z grupy kontrolnej.

Wyniki:

W prezentowanym badaniu w populacji polskiej wykazano związek genotypu AA polimorfizmu *FGB* -455G>A ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na krwotok śródmózgowy w ogóle oraz na krwotok zlokalizowany głęboko - ale tylko w analizie jednoczynnikowej, natomiast analiza wieloczynnikowa nie potwierdziła takiej zależności. Podobnie, allel A polimorfizmu jako czynnik ryzyka krwotoku głębokiego był obecny tylko w analizie jednoczynnikowej.

Także w populacji polskiej wykazano związek genotypu TT (Leu) polimorfizmu *F13A1* Val34Leu ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na krwotok śródmózgowy w ogóle - był on obecny w analizie wieloczynnikowej.

W populacji greckiej nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy tymi polimorfizmami genów związanych z układem krzepnięcia a ryzykiem krwotoku śródmózgowego.

W populacji polskiej genotyp TT polimorfizmu *CRP* +1444C>T był związany ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na krwotok śródmózgowy w ogóle oraz zlokalizowany płatowo zarówno w analizie jednoczynnikowej, jak i wieloczynnikowej. Allel T jako czynnik ryzyka krwotoku śródmózgowego w ogóle był obecny w analizie jednoczynnikowej.

W populacji polskiej nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy polimorfizmem *IL6* -174G>C a ryzykiem krwotoku śródmózgowego. Natomiast w populacji greckiej związek genotypu CC ze zmniejszonym ryzykiem zachorowania na krwotok śródmózgowy zlokalizowany głęboko był obecny w analizie jednoczynnikowej, zaś dla krwotoku

śródmózgowego w ogóle oraz zlokalizowanego głęboko był obecny w analizie wieloczynnikowej. Ten sam genotyp był związany ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na krwotok zlokalizowany płatowo w analizie wieloczynnikowej. Allel C jako czynnik ryzyka krwotoku głębokiego był obecny w analizie jedno- i wieloczynnikowej.

8. Summary

Introduction:

Intracerebral haemorrhage (ICH) is associated with a poor outcome: high mortality and major disability. There are many well-documented risk factors for ICH. The role of genetic variability as a risk factor for ICH remains unclear. So far, an association between fibrin clot properties, the intensity of inflammatory reaction and the risk of ICH has been found in the literature. It has been indicated that both fibrin clot formation and inflammatory reaction depend largely on multiple single nucleotide polymorphisms in the genes related to those processes.

Aims:

The main goal of the study was to investigate the relationship between selected polymorphisms of the coagulation factors genes and inflammatory mediators genes and risk of primary intracerebral haemorrhage (PICH), according to its location, in two European populations. The following polymorphisms were analysed: *FGB* -455G>A, *F13A1* Val34Leu, *CRP* +1444C>T and *IL6* -174G>C. The impact of other well-known risk factors for ICH was also analysed with respect to each of the selected polymorphisms.

Material and methods:

The study was conducted simultaneously in two European populations: Polish and Greek. The Polish group consisted of 245 patients diagnosed with PICH and 422 healthy volunteers in the control group. The Greek group consisted of 250 patients diagnosed with PICH and 250 healthy volunteers in the control group.

Data including demographics, vascular risk factors, co-morbidities, family history, course of disease and disability status at the time of hospital discharge were collected for each study participant. The location and etiology of ICH were determined by computed tomography, computed tomography angiography, magnetic resonance angiography, and DSA.

Genotyping was performed using real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) method. The role of the analyzed genotypes in ICH in relation to its location (general, deep, or lobar) was

assessed in three inheritance models: dominant, recessive and additive. In order to identify the analysed polymorphisms as independent risk factors for ICH the multivariate analysis was performed. The following variables were included: age, sex and those which distribution between the patients and healthy controls was significantly different.

Results:

In the current study an association between the AA genotype of *FGB* -455G>A and an increased risk of PICH in the Polish population was found. That relationship was observed among patients with PICH in general and patients with haemorrhage of deep location but only in the univariate analysis. A allele of the studied polymorphism was a risk factor for PICH but only in the univariate analysis.

An association between the TT (Leu) genotype of *F13A1* Val 34 Leu polymorphism and an increased risk of PICH in general in the Polish population was also shown in the multivariate analysis.

In the Greek population no association between the analysed polymorphisms in the coagulation factors genes and risk of PICH was observed.

In the Polish population the TT genotype of *CRP* +1444C>T was associated with an increased risk of PICH in general and in patients with lobar haemorrhage. The risk was observed both in the univariate and multivariate analyses. Likewise, the T allele was a risk factor for PICH in the univariate analysis only.

In the Polish population no association between the *IL6* -174G>C polymorphism and risk of PICH was found. In the Greek population the CC genotype of the studied polymorphism was associated with a decreased risk of PICH of deep location in the univariate analysis and PICH in general and PICH of deep location in the multivariate analysis. The CC genotype was also associated with an increased risk of lobar PICH in the multivariate analysis. C allele was a risk factor for deep PICH both in the univariate and multivariate analyses.

9. Piśmiennictwo

1. K. Aho, P. Harmsen, S. Hatano, J. Marquardsen, V. E. Smirnov, T. Strasser, "Cerebrovascular disease in the community: results of a WHO collaborative study," *Bull. World Health Organ.*, vol. 58, no. 1, pp. 113–130, 1980.
2. F. D'Aiuto, J. P. Casas, T. Shah, S. E. Humphries, A. D. Hingorani, M. S. Tonetti, "C-reactive protein (+1444C>T) polymorphism influences CRP response following a moderate inflammatory stimulus," *Atherosclerosis*, vol. 179, no. 2, pp. 413–417, 2005.
3. R. Ajjan, B. C. B. Lim, K. F. Standeven, R. Harrand, S. Dolling, F. Phoenix i wsp., "Common variation in the C-terminal region of the fibrinogen beta-chain: effects on fibrin structure, fibrinolysis and clot rigidity.," *Blood*, vol. 111, no. 2, pp. 643–650, 2008.
4. R. A. Ajjan, K. F. Standeven, M. Khanbhai, F. Phoenix, K. C. Gersh, J. W. Weisel i wsp., "Effects of Aspirin on Clot Structure and Fibrinolysis Using a Novel In Vitro Cellular System," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 29, no. 5, pp. 712–717, 2009.
5. M. J. Alberts, "Secondary prevention of stroke and the expanding role of the neurologist.," *Cerebrovasc. Dis.*, vol. 13 Suppl 1, pp. 12–16, 2002.
6. M. A. Albert, G. Pare, A. Morris, L. Rose, J. Buring, P. M. Ridker, R. Y. L. Zee, "Candidate genetic variants in the fibrinogen, methylenetetrahydrofolate reductase, and intercellular adhesion molecule-1 genes and plasma levels of fibrinogen, homocysteine, and intercellular adhesion molecule-1 among various race/ethnic groups: data from the Women's Genome Health Study.," *Am. Heart J.*, vol. 157, no. 4, pp. 777–783, 2009.
7. W. N. Al-Holou, T. M. O'Lynnger, A. S. Pandey, J. J. Gemmete, B. G. Thompson, K. M. Muraszko i wsp., "Natural history and imaging prevalence of cavernous malformations in children and young adults," *J. Neurosurg. Pediatr.*, vol. 9, no. 2, pp. 198–205, 2012.
8. R. Al-Shahi Salman, J. M. Hall, M. A. Horne, F. Moultrie, C. B. Josephson, J. J. Bhattacharya i wsp., "Untreated clinical course of cerebral cavernous malformations: a prospective, population-based cohort study.," *Lancet. Neurol.*, vol. 11, no. 3, pp. 217–224, 2012.
9. J. Andersson, L. Johansson, P. Ladenvall, P. G. Wiklund, B. Stegmayr, C. Jern, K. Boman, "C-reactive protein is a determinant of first-ever stroke: Prospective nested case-referent study," *Cerebrovasc. Dis.*, vol. 27, no. 6, pp. 544–551, 2009.

10. B. Antalfi, E. Pongrcz, Z. Csiki, Z. A. Mezei, A. H. Shemirani, "Factor XIII-A subunit Val34Leu polymorphism in fatal hemorrhagic stroke," *Int. J. Lab. Hematol.*, vol. 35, no. 1, pp. 88–91, 2013.
11. R. Antonicelli, F. Olivieri, M. Bonafè, L. Cavallone, L. Spazzafumo, F. Marchegiani i wsp., "The interleukin-6 –174 GC promoter polymorphism is associated with a higher risk of death after an acute coronary syndrome in male elderly patients," *Int. J. Cardiol.*, vol. 103, no. 3, pp. 266–271, 2005.
12. M. J. Ariesen, S. P. Claus, G. J. E. Rinkel, A. Algra, "Risk factors for intracerebral hemorrhage in the general population: A systematic review," *Stroke*, vol. 34, no. 8, pp. 2060–2065, 2003.
13. C. J. van Asch, M. J. Luitse, G. J. Rinkel, I. van der Tweel, A. Algra, C. J. Klijn, "Incidence, case fatality, and functional outcome of intracerebral haemorrhage over time, according to age, sex, and ethnic origin: a systematic review and meta-analysis," *Lancet Neurol.*, vol. 9, no. 2, pp. 167–176, 2010.
14. J. Attems, K. Jellinger, D. R. Thal, W. Van Nostrand, "Review: sporadic cerebral amyloid angiopathy.," *Neuropathol. Appl. Neurobiol.*, vol. 37, no. 1, pp. 75–93, 2011.
15. F. A. Attié-Castro, M. A. Zago, J. Lavinha, J. Elion, L. Rodriguez-Delfin, J. F. Guerreiro, R. F. Franco, "Ethnic heterogeneity of the factor XIII Val34Leu polymorphism.," *Thromb. Haemost.*, vol. 84, no. 4, pp. 601–3, 2000.
16. M. Bagli, A. Papassotiropoulos, M. Knapp, F. Jessen, M. Luise Rao, W. Maier, R. Heun, "Association between an interleukin-6 promoter and 3' flanking region haplotype and reduced Alzheimer's disease risk in a German population.," *Neurosci. Lett.*, vol. 283, no. 2, pp. 109–112, 2000.
17. Z. Bagoly, Z. Koncz, J. Hársfalvi, L. Muszbek, "Factor XIII, clot structure, thrombosis," *Thromb. Res.*, vol. 129, no. 3, pp. 382–387, 2012.
18. Y. Bai, J. Chen, K. Sun, Y. Wang, R. Hui, "A functional variant in promoter region of platelet-derived growth factor-D is probably associated with intracerebral hemorrhage," *J. Neuroinflammation*, vol. 9, no. 1, p. 528, 2012.
19. F. Basso, G. D. O. Lowe, A. Rumley, A. D. McMahon, S. E. Humphries, "Interleukin-6 -174GC polymorphism and risk of coronary heart disease in West of Scotland coronary prevention study (WOSCOPS).," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 22, no. 4, pp. 599–604, 2002.

20. R. E. Baumann, A. H. Henschen, "Linkage disequilibrium relationships among four polymorphisms within the human fibrinogen gene cluster.," *Hum. Genet.*, vol. 94, no. 2, pp. 165–170, 1994.
21. I. Behague, O. Poirier, V. Nicaud, A. Evans, D. Arveiler, G. Luc i wsp., "Beta fibrinogen gene polymorphisms are associated with plasma fibrinogen and coronary artery disease in patients with myocardial infarction. The ECTIM Study. Etude Cas-Temoins sur l'Infarctus du Myocarde.," *Circulation*, vol. 93, no. 3, pp. 440–449, 1996.
22. M. Bennermo, C. Held, S. Stemme, C.-G. Ericsson, A. Silveira, F. Green, P. Tornvall, "Genetic Predisposition of the Interleukin-6 Response to Inflammation: Implications for a Variety of Major Diseases?," *Clin. Chem.*, vol. 50, no. 11, pp. 2136–2140, 2004.
23. F. Bergametti, C. Denier, P. Labauge, M. Arnoult, S. Boetto, M. Clanet i wsp., "Mutations within the Programmed Cell Death 10 Gene Cause Cerebral Cavernous Malformations," *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 76, no. 1, pp. 42–51, 2005.
24. E. A. Bermudez, N. Rifai, J. Buring, J. E. Manson, P. M. Ridker, "Interrelationships among circulating interleukin-6, C-reactive protein, and traditional cardiovascular risk factors in women.," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 22, no. 10, pp. 1668–1673, 2002.
25. Biffi, A. Halpin, A. Towfighi, A. Gilson, K. Busl, N. Rost i wsp., "Aspirin and recurrent intracerebral hemorrhage in cerebral amyloid angiopathy," *Neurology*, vol. 75, no. 8, pp. 693–698, 2010.
26. A. Biffi, S. M. Greenberg, "Cerebral amyloid angiopathy: a systematic review.," *J. Clin. Neurol.*, vol. 7, no. 1, pp. 1–9, 2011.
27. A. Biffi, J. M. Shulman, J. M. Jagiella, L. Cortellini, A. M. Ayres, K. Schwab i wsp., "Genetic variation at CR1 increases risk of cerebral amyloid angiopathy," *Neurology*, vol. 78, no. 5, pp. 334–341, 2012.
28. T. D. Bjornsson, D. E. Schneider, H. Berger, "Aspirin acetylates fibrinogen and enhances fibrinolysis. Fibrinolytic effect is independent of changes in plasminogen activator levels.," *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, vol. 250, no. 1, pp. 154–161, 1989.
29. M. Blombäck, S. He, N. Bark, H. N. Wallen, M. Elg, "Effects on fibrin network porosity of anticoagulants with different modes of action and reversal by activated coagulation factor concentrate*," *Br. J. Haematol.*, vol. 152, no. 6, pp. 758–765, 2011.

30. M. Bogucki, J. Gierczyński, J. Gryglewicz, E. Karczewicz, H. Zalewska, "Udary mózgu - konsekwencje społeczne i ekonomiczne," Wydawca: Uczelnia Łazarskiego, Warszawa 2013.
31. J. C. Breitner, B. A. Gau, K. A. Welsh, B. L. Plassman, W. M. McDonald, M. J. Helms, J. C. Anthony, "Inverse association of anti-inflammatory treatments and Alzheimer's disease: initial results of a co-twin control study.," *Neurology*, vol. 44, no. 2, pp. 227–232, 1994.
32. D. J. Brull, N. Serrano, F. Zito, L. Jones, H. E. Montgomery, A. Rumley i wsp., "Human CRP Gene Polymorphism Influences CRP Levels: Implications for the Prediction and Pathogenesis of Coronary Heart Disease," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 23, no. 11, pp. 2063–2069, 2003.
33. A. Bulbarelli, E. Lonati, A. Brambilla, A. Orlando, E. Cazzaniga, F. Piazza i wsp., "A β 42 production in brain capillary endothelial cells after oxygen and glucose deprivation," *Mol. Cell. Neurosci.*, vol. 49, no. 4, pp. 415–422, 2012.
34. K. Buresly, M. J. Eisenberg, X. Zhang, L. Pilote, "Bleeding complications associated with combinations of aspirin, thienopyridine derivatives, and warfarin in elderly patients following acute myocardial infarction.," *Arch. Intern. Med.*, vol. 165, no. 7, pp. 784–789, 2005.
35. J. A. Caceres, J. N. Goldstein, "Intracranial hemorrhage.," *Emerg. Med. Clin. North Am.*, vol. 30, no. 3, pp. 771–794, 2012.
36. A. M. Carpenter, I. P. Singh, C. D. Gandhi, C. J. Prestigiacomo, "Genetic risk factors for spontaneous intracerebral haemorrhage," *Nat. Rev. Neurol.*, vol. 12, no. 1, pp. 40–49, 2015.
37. J. Catto, H. P. Kohler, S. Bannan, M. Stickland, A. Carter, P. J. Grant, "Factor XIII Val 34 Leu: a novel association with primary intracerebral hemorrhage.," *Stroke*, vol. 29, no. 4, pp. 813–816, 1998.
38. Y. Chen, L. Pawlikowska, J. S. Yao, F. Shen, W. Zhai, A. S. Achrol i wsp., "Interleukin-6 involvement in brain arteriovenous malformations," *Ann. Neurol.*, vol. 59, no. 1, pp. 72–80, 2006.
39. Y.-C. Chen, F.-J. Hu, P. Chen, Y.-R. Wu, H.-C. Wu, S.-T. Chen i wsp., "Association of TNF- α gene with spontaneous deep intracerebral hemorrhage in the Taiwan population: a case control study," *BMC Neurol.*, vol. 10, no. 1, p. 41, 2010.

40. Y. -f. Cheung, G. -y. Huang, S. -b. Chen, X. -q. Liu, L. Xi, X. -c. Liang i wsp., "Inflammatory Gene Polymorphisms and Susceptibility to Kawasaki Disease and Its Arterial Sequelae," *Pediatrics*, vol. 122, no. 3, pp. e608–e614, 2008.
41. H. Cho, B. C. Kim, M. K. Kim, B. A. Shin, "No Association of Factor XIII Val34Leu Polymorphism with Primary Intracerebral Hemorrhage and Healthy Controls in Korean Population," *J. Korean Med. Sci.*, vol. 17, no. 2, p. 249, 2002.
42. M. C. Christensen, J. Broderick, C. Vincent, S. Morris, T. Steiner, "Global differences in patient characteristics, case management and outcomes in intracerebral hemorrhage: The factor seven for acute hemorrhagic stroke (FAST) trial," *Cerebrovasc. Dis.*, vol. 28, no. 1, pp. 55–64, 2009.
43. J. Corral, J. A. Iniesta, R. González-Conejero, M. Villalón, V. Vicente, "Polymorphisms of clotting factors modify the risk for primary intracranial hemorrhage.," *Blood*, vol. 97, no. 10, pp. 2979–82, 2001.
44. J.-C. Corvol, A. Bouzamondo, M. Sirol, J.-S. Hulot, P. Sanchez, P. Lechat, "Differential effects of lipid-lowering therapies on stroke prevention: a meta-analysis of randomized trials.," *Arch. Intern. Med.*, vol. 163, no. 6, pp. 669–676, 2003.
45. H. D. Craig, M. Günel, O. Cepeda, E. W. Johnson, L. Ptacek, G. K. Steinberg i wsp., "Multilocus linkage identifies two new loci for a mendelian form of stroke, cerebral cavernous malformation, at 7p15-13 and 3q25.2-27.," *Hum. Mol. Genet.*, vol. 7, no. 12, pp. 1851–1858, 1998.
46. D. C. Crawford, Q. Yi, J. D. Smith, C. Shephard, M. Wong, L. Witrak i wsp., "Allelic spectrum of the natural variation in CRP," *Hum. Genet.*, vol. 119, no. 5, pp. 496–504, 2006.
47. A. Członkowska, D. Ryglewicz, "[Epidemiology of cerebral stroke in Poland].," *Neurol. Neurochir. Pol.*, vol. 32 Suppl 6, pp. 99–103, 1999.
48. S. Dannenberg, J. F. Scheitz, M. Rozanski, H. Erdur, P. Brunecker, D. J. Werring i wsp., "Number of Cerebral Microbleeds and Risk of Intracerebral Hemorrhage After Intravenous Thrombolysis," *Stroke*, vol. 45, no. 10, pp. 2900–2905, 2014.
49. E. Dardiotis, G. M. Hadjigeorgiou, M. Dardioti, N. Scarmeas, K. Paterakis, K. Aggelakis i wsp., "Alpha-1 Antichymotrypsin Gene Signal Peptide A/T Polymorphism and Primary Intracerebral Hemorrhage," *Eur. Neurol.*, vol. 59, no. 6, pp. 307–314, 2008.
50. E. Dardiotis, J. Jagiella, G. Xiromerisiou, M. Dardioti, C. Vogiatzi, A. Urbanik i wsp., "Angiotensin-converting enzyme tag single nucleotide polymorphisms in patients

- with intracerebral hemorrhage,” *Pharmacogenet. Genomics*, vol. 21, no. 3, pp. 136–141, 2011.
51. W. J. Devan, G. J. Falcone, C. D. Anderson, J. M. Jagiella, H. Schmidt, B. M. Hansen i wsp., “Heritability estimates identify a substantial genetic contribution to risk and outcome of intracerebral hemorrhage,” *Stroke*, vol. 44, no. 6, pp. 1578–1583, 2013.
 52. E. J. van Dijk, N. D. Prins, S. E. Vermeer, H. A. Vrooman, A. Hofman, P. J. Koudstaal, M. M. B. Breteler, “C-reactive protein and cerebral small-vessel disease: the Rotterdam Scan Study,” *Circulation*, vol. 112, no. 6, pp. 900–905, 2005.
 53. M. J. O’Donnell, X. Denis, L. Liu, H. Zhang, S. L. Chin, P. Rao-Melacini i wsp., “Risk factors for ischaemic and intracerebral haemorrhagic stroke in 22 countries (the INTERSTROKE study): A case-control study,” *Lancet*, vol. 376, no. 9735, pp. 112–123, 2010.
 54. S. Dupuis-Girod, S. Baily, H. Plauchu, “Hereditary hemorrhagic telangiectasia: from molecular biology to patient care,” *J. Thromb. Haemost.*, vol. 8, no. 7, pp. 1447–1456, 2010.
 55. C. Duval, M. Ali, W. W. Chaudhry, V. C. Ridger, R. A. S. Ariëns, H. Philippou, “Factor XIII A-Subunit V34L Variant Affects Thrombus Cross-Linking in a Murine Model of Thrombosis Significance,” *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 36, no. 2, pp. 308–316, 2016.
 56. R. Elosua, B. Bartali, J. M. Ordovas, A. M. Corsi, F. Lauretani, L. Ferrucci, InCHIANTI Investigators, “Association between physical activity, physical performance, and inflammatory biomarkers in an elderly population: the InCHIANTI study,” *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.*, vol. 60, no. 6, pp. 760–767, 2005.
 57. T. Emiru, E. M. Bershada, N. D. Zantek, Y. H. Datta, G. H. R. Rao, E. W. Hartley, A. A. Divani, “Intracerebral hemorrhage: a review of coagulation function,” *Clin. Appl. Thromb. Hemost.*, vol. 19, no. 6, pp. 652–662, 2013.
 58. G. Endler, M. Funk, D. Haering, W. Lalouschek, W. Lang, M. Mirafzal i wsp., “Is the factor XIII 34Val/Leu polymorphism a protective factor for cerebrovascular disease?,” *Br. J. Haematol.*, vol. 120, no. 2, pp. 310–314, 2003.
 59. G. Endler, C. Marsik, C. Joukhadar, R. Marculescu, F. Mayr, C. Mannhalter i wsp., “The Interleukin-6 G(-174)C Promoter Polymorphism Does Not Determine Plasma Interleukin-6 Concentrations in Experimental Endotoxemia in Humans,” *Clin. Chem.*, vol. 50, no. 1, pp. 195–200, 2004.

60. J. A. Eng, M. P. Frosch, K. Choi, G. W. Rebeck, S. M. Greenberg, "Clinical manifestations of cerebral amyloid angiopathy-related inflammation," *Ann. Neurol.*, vol. 55, no. 2, pp. 250–256, 2004.
61. K. Esposito, R. Marfella, M. Ciotola, C. Di Palo, F. Giugliano, G. Giugliano i wsp., "Effect of a Mediterranean-Style Diet on Endothelial Dysfunction and Markers of Vascular Inflammation in the Metabolic Syndrome," *JAMA*, vol. 292, no. 12, p. 1440, 2004.
62. E. S. van Etten, E. Auriel, K. E. Haley, A. M. Ayres, A. Vashkevich, K. M. Schwab i wsp., "Incidence of symptomatic hemorrhage in patients with lobar microbleeds.," *Stroke*, vol. 45, no. 8, pp. 2280–2285, 2014.
63. F. Faltraco, K. Bürger, P. Zill, S. J. Teipel, H.-J. Möller, H. Hampel i wsp., "Interleukin-6-174 G/C promoter gene polymorphism C allele reduces Alzheimer's disease risk.," *J. Am. Geriatr. Soc.*, vol. 51, no. 4, pp. 578–579, 2003.
64. V. L. Feigin, C. M. Lawes, D. A. Bennett, S. L. Barker-Collo, V. Parag, "Worldwide stroke incidence and early case fatality reported in 56 population-based studies: a systematic review," *Lancet Neurol.*, vol. 8, no. 4, pp. 355–369, 2009.
65. A. Fernández-L, F. Sanz-Rodríguez, F. J. Blanco, C. Bernabéu, L. M. Botella, "Hereditary hemorrhagic telangiectasia, a vascular dysplasia affecting the TGF-beta signaling pathway.," *Clin. Med. Res.*, vol. 4, no. 1, pp. 66–78, 2006.
66. J. M. Ferro, "Update on intracerebral haemorrhage," *J. Neurol.*, vol. 253, no. 8, pp. 985–999, 2006.
67. L. Ferrucci, A. Corsi, F. Lauretani, S. Bandinelli, B. Bartali, D. D. Taub i wsp., "The origins of age-related proinflammatory state," *Blood*, vol. 105, no. 6, pp. 2294–2299, 2005.
68. Fibrinogen Studies Collaboration, J. Danesh, S. Lewington, S. G. Thompson, G. D. O. Lowe, R. Collins i wsp., "Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality: an individual participant meta-analysis.," *JAMA*, vol. 294, no. 14, pp. 1799–1809, 2005.
69. M. Fidalgo, M. Fraile, A. Pires, T. Force, C. Pombo, J. Zalvide, "CCM3/PDCD10 stabilizes GCKIII proteins to promote Golgi assembly and cell orientation.," *J. Cell Sci.*, vol. 123, no. Pt 8, pp. 1274–1284, 2010.
70. J. Fiehler, G. W. Albers, J.-M. Boulanger, L. Derex, A. Gass, N. Hjort i wsp., "Bleeding Risk Analysis in Stroke Imaging Before ThromboLysis (BRASIL): Pooled Analysis of T2*-Weighted Magnetic Resonance Imaging Data From 570 Patients," *Stroke*, vol. 38, no. 10, pp. 2738–2744, 2007.

71. G. Fishman, G. Faulds, R. Jeffery, V. Mohamed-Ali, J. S. Yudkin, S. Humphries, P. Woo, "The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis.," *J. Clin. Invest.*, vol. 102, no. 7, pp. 1369–1376, 1998.
72. M. L. Flaherty, B. Kissela, D. Woo, D. Kleindorfer, K. Alwell, P. Sekar i wsp., "The increasing incidence of anticoagulant-associated intracerebral hemorrhage," *Neurology*, vol. 68, no. 2, pp. 116–121, 2007.
73. M. Fornage, Y. A. Chiang, E. S. O'Meara, B. M. Psaty, A. P. Reiner, D. S. Siscovick i wsp., "Biomarkers of Inflammation and MRI-Defined Small Vessel Disease of the Brain: The Cardiovascular Health Study," *Stroke*, vol. 39, no. 7, pp. 1952–1959, 2008.
74. Y. Fujii, R. Tanaka, S. Takeuchi, T. Koike, T. Minakawa, O. Sasaki, "Hematoma enlargement in spontaneous intracerebral hemorrhage," *J. Neurosurg.*, vol. 80, no. 1, pp. 51–57, 1994.
75. G.-G. Gan, R. Subramaniam, L.-H. Lian, V. Nadarajan, "Ethnic Variation in Interleukin-6 –174 (G/C) Polymorphism in the Malaysian Population," *Balk. J. Med. Genet.*, vol. 16, no. 2, pp. 53–58, 2013.
76. D. Gemmati, M. L. Serino, A. Ongaro, S. Tognazzo, S. Moratelli, R. Resca i wsp., "A common mutation in the gene for coagulation factor XIII-A (VAL34Leu): a risk factor for primary intracerebral hemorrhage is protective against atherothrombotic diseases.," *Am. J. Hematol.*, vol. 67, no. 3, pp. 183–188, 2001.
77. D. Ghelmez, S. T. S, C. Popa, "Cerebral microbleeds (CMBs) – relevance for mechanisms of cerebral hemorrhage – analysis of 24 MRI evaluated patients," vol. 6, no. 4, pp. 437–439, 2013.
78. A. Glading, J. Han, R. A. Stockton, M. H. Ginsberg, "KRIT-1/CCM1 is a Rap1 effector that regulates endothelial cell cell junctions.," *J. Cell Biol.*, vol. 179, no. 2, pp. 247–254, 2007.
79. S. Go, D. Mozaffarian, V. L. Roger, E. J. Benjamin, J. D. Berry, W. B. Borden i wsp., "Executive summary: Heart disease and stroke statistics-2013 update: A Report from the American Heart Association," *Circulation*, vol. 127, no. 1, pp. 143–152, 2013.
80. D. B. Gould, F. C. Phalan, G. J. Breedveld, S. E. van Mil, R. S. Smith, J. C. Schimenti i wsp., "Mutations in Col4a1 cause perinatal cerebral hemorrhage and porencephaly.," *Science*, vol. 308, no. 5725, pp. 1167–1171, 2005.

81. D. B. Gould, F. C. Phalan, S. E. van Mil, J. P. Sundberg, K. Vahedi, P. Massin i wsp., "Role of COL4A1 in Small-Vessel Disease and Hemorrhagic Stroke," *N. Engl. J. Med.*, vol. 354, no. 14, pp. 1489–1496, 2006.
82. S. M. Greenberg, J. P. Vonsattel, A. Z. Segal, R. I. Chiu, A. E. Clatworthy, A. Liao i wsp., "Association of apolipoprotein E epsilon2 and vasculopathy in cerebral amyloid angiopathy.," *Neurology*, vol. 50, no. 4, pp. 961–965, 1998.
83. S. M. Greenberg, Y. Shin, T. J. Grabowski, G. E. Cooper, G. W. Rebeck, S. Iglesias i wsp., "Hemorrhagic stroke associated with the Iowa amyloid precursor protein mutation.," *Neurology*, vol. 60, no. 6, pp. 1020–1022, 2003.
84. S. M. Greenberg, M. E. Gurol, J. Rosand, E. E. Smith, "Amyloid Angiopathy-Related Vascular Cognitive Impairment," *Stroke*, vol. 35, no. 11 suppl. 1, pp. 2616–2619, 2004.
85. R. Green, "Fibrinogen polymorphisms and atherothrombotic disease.," *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 936, pp. 549–559, 2001.
86. M. Gunel, M. S. H. Laurans, D. Shin, M. L. DiLuna, J. Voorhees, K. Choate i wsp., "KRIT1, a gene mutated in cerebral cavernous malformation, encodes a microtubule-associated protein.," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 99, no. 16, pp. 10677–10682, 2002.
87. N. Hamel, B.-J. Feng, L. Foretova, D. Stoppa-Lyonnet, S. A. Narod, E. Imyanitov i wsp., "On the origin and diffusion of BRCA1 c.5266dupC (5382insC) in European populations," *Eur. J. Hum. Genet.*, vol. 19, no. 3, pp. 300–306, 2011.
88. D. G. Harrison, T. J. Guzik, H. E. Lob, M. S. Madhur, P. J. Marvar, S. R. Thabet i wsp., "Inflammation, Immunity, and Hypertension," *Hypertension*, vol. 57, no. 2, pp. 132–140, 2011.
89. L. He, Q. Ma, Y. Wang, X. Liu, Y. Yuan, Y. Zhang i wsp., "Association of variants in KCNK17 gene with ischemic stroke and cerebral hemorrhage in a Chinese population.," *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.*, vol. 23, no. 9, pp. 2322–2327, 2014.
90. J. He, P. K. Whelton, B. Vu, M. J. Klag, "Aspirin and risk of hemorrhagic stroke: a meta-analysis of randomized controlled trials.," *JAMA*, vol. 280, no. 22, pp. 1930–1935, 1998.
91. G. Howard, M. Cushman, V. J. Howard, B. M. Kissela, D. O. Kleindorfer, C. S. Moy i wsp., "Risk factors for intracerebral hemorrhage: The reasons for geographic and racial differences in stroke (REGARDS) study," *Stroke*, vol. 44, no. 5, pp. 1282–1287, 2013.

92. G. Howard, L. E. Wagenknecht, W. N. Kernan, M. Cushman, E. L. Thacker, S. E. Judd i wsp., "Racial differences in the association of insulin resistance with stroke risk: The REasons for Geographic and Racial Differences in Stroke (REGARDS) study," *Stroke*, vol. 45, no. 8, pp. 2257–2262, 2014.
93. W.-M. Ho, C.-M. Chen, Y.-S. Lee, K.-H. Chang, H.-W. Chen, S.-T. Chen, Y.-C. Chen, "Association of MMP-9 Haplotypes and TIMP-1 Polymorphism with Spontaneous Deep Intracerebral Hemorrhage in the Taiwan Population.," *PLoS One*, vol. 10, no. 5, p. e0125397, 2015.
94. M. Huell, S. Strauss, B. Volk, M. Berger, J. Bauer, "Interleukin-6 is present in early stages of plaque formation and is restricted to the brains of Alzheimer's disease patients," *Acta Neuropathol.*, vol. 89, no. 6, pp. 544–551, 1995.
95. J. Huhtakangas, S. Tetri, S. Juvela, P. Saloheimo, M. K. Bode, M. Hillbom, "Effect of increased warfarin use on warfarin-related cerebral hemorrhage: A longitudinal population-based study," *Stroke*, vol. 42, no. 9, pp. 2431–2435, 2011.
96. J. Hulkkonen, J. Vilpo, L. Vilpo, T. Koski, M. Hurme, "Interleukin-1 beta, interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-6 plasma levels and cytokine gene polymorphisms in chronic lymphocytic leukemia: correlation with prognostic parameters.," *Haematologica*, vol. 85, no. 6, pp. 600–606, 2000.
97. S. Humphries, L. A. Luong, M. S. Ogg, E. Hawe, G. J. Miller, "The interleukin-6 –174 G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men," *Eur. Heart J.*, vol. 22, no. 24, pp. 2243–2252, 2001.
98. T. Illig, F. Bongardt, A. Schöpfer, S. Müller-Scholze, W. Rathmann, W. Koenig i wsp., "Significant association of the interleukin-6 gene polymorphisms C-174G and A-598G with type 2 diabetes.," *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 89, no. 10, pp. 5053–5058, 2004.
99. H. Iso, D. R. Jacobs, D. Wentworth, J. D. Neaton, J. D. Cohen, "Serum Cholesterol Levels and Six-Year Mortality from Stroke in 350,977 Men Screened for the Multiple Risk Factor Intervention Trial," *N. Engl. J. Med.*, vol. 320, no. 14, pp. 904–910, 1989.
100. E. Israelsson, M. Ekström, A. Nasr, A. Dolo, S. Kearsley, G. Arambepola i wsp., "Marked differences in CRP genotype frequencies between the Fulani and sympatric ethnic groups in Africa," *Malar. J.*, vol. 8, no. 1, p. 136, 2009.
101. J. Jagiełła, E. Dardiotis, J. Gąsowski, J. Pera, T. Dzedzic, A. Klimkowicz-Mrowiec i wsp., "The FGA Thr312Ala polymorphism and risk of intracerebral haemorrhage in Polish and Greek populations.," *Neurol. Neurochir. Pol.*, vol. 48, no. 2, pp. 105–110, 2014.

102. J. M. Bond, "Assessment of outcome after severe brain damage.," *Lancet* (London, England), vol. 1, no. 7905, pp. 480–484, 1975.
103. S. Jenny, R. P. Tracy, M. S. Ogg, L. A. Luong, L. H. Kuller, A. M. Arnold i wsp., "In the elderly, interleukin-6 plasma levels and the -174GC polymorphism are associated with the development of cardiovascular disease.," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 22, no. 12, pp. 2066–2071, 2002.
104. B. Jiang, W. Wang, H. Chen, Z. Hong, Q. Yang, S. Wu i wsp., "Incidence trends of stroke and its subtypes in China: results from three large cities.," *Stroke.*, vol. 37, no. 1, pp. 63–68, 2006.
105. F. Kametani, S. Ikeda, N. Yanagisawa, T. Ishi, N. Hanyu, "Characterization of a transthyretin-related amyloid fibril protein from cerebral amyloid angiopathy in type I familial amyloid polyneuropathy.," *J. Neurol. Sci.*, vol. 108, no. 2, pp. 178–183, 1992.
106. J. A. Kamp, L. G. Moursel, J. Haan, G. M. Terwindt, S. A. M. J. Lesnik Oberstein, S. G. van Duinen, W. M. C. van Roon-Mom, "Amyloid β in hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis-Dutch type.," *Rev. Neurosci.*, vol. 25, no. 5, pp. 641–651, 2014.
107. T. Kettunen, C. Eklund, M. Kähönen, A. Jula, H. Päivä, L.-P. Lyytikäinen i wsp., "Polymorphism in the C-reactive protein (CRP) gene affects CRP levels in plasma and one early marker of atherosclerosis in men: The Health 2000 Survey.," *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, vol. 71, no. 5, pp. 353–361, 2011.
108. S. K. Kim, H. J. Park, J. W. Kim, J.-H. Chung, S. D. Yoo, D. H. Kim i wsp., "T Allele of nonsense polymorphism (rs2039381, Gln71Stop) of interferon- ϵ is a risk factor for the development of intracerebral hemorrhage.," *Hum. Immunol.*, vol. 75, no. 1, pp. 88–90, 2014.
109. E. King, B. M. Egan, A. G. Mainous, M. E. Geesey, "Elevation of C-reactive protein in people with prehypertension.," *J. Clin. Hypertens. (Greenwich).*, vol. 6, no. 10, pp. 562–568, 2004.
110. P. L. Kolominsky-Rabas, C. Sarti, P. U. Heuschmann, C. Graf, S. Siemonsen, B. Neundoerfer i wsp., "A prospective community-based study of stroke in Germany--the Erlangen Stroke Project (ESPro): incidence and case fatality at 1, 3, and 12 months.," *Stroke.*, vol. 29, no. 12, pp. 2501–2506, 1998.
111. H. P. Kohler, M. H. Stickland, N. Ossei-Gerning, A. Carter, H. Mikkola, P. J. Grant, "Association of a common polymorphism in the factor XIII gene with myocardial infarction.," *Thromb. Haemost.*, vol. 79, no. 1, pp. 8–13, 1998.

112. H. Kok, M. Alanne-Kinnunen, K. Isotalo, T. Luoto, S. Haikonen, S. Goebeler i wsp., "CRP gene variation affects early development of Alzheimer's disease-related plaques," *J. Neuroinflammation*, vol. 8, no. 1, p. 96, 2011.
113. R. V. Krishnamurthi, V. L. Feigin, M. H. Forouzanfar, G. A. Mensah, M. Connor, D. A. Bennett i wsp., "Global and regional burden of first-ever ischaemic and haemorrhagic stroke during 1990-2010: Findings from the Global Burden of Disease Study 2010," *Lancet Glob. Heal.*, vol. 1, no. 5, pp. e259–e281, 2013.
114. M. Kubo, Y. Kiyohara, I. Kato, Y. Tanizaki, H. Arima, K. Tanaka i wsp., "Trends in the incidence, mortality, and survival rate of cardiovascular disease in a Japanese community: The Hisayama study," *Stroke*, vol. 34, no. 10, pp. 2349–2354, 2003.
115. R. F. Kushner, D. J. Blatner, D. E. Jewell, K. Rudloff, "The PPET Study: People and Pets Exercising Together*," *Obesity*, vol. 14, no. 10, pp. 1762–1770, 2006.
116. Kwasny-Krochin, P. Gluszko, A. Undas, "Unfavorably altered fibrin clot properties in patients with active rheumatoid arthritis," *Thromb. Res.*, vol. 126, no. 1, pp. e11–e16, 2010.
117. L. Labovitz, A. Halim, B. Boden-Albala, W. A. Hauser, R. L. Sacco, "The incidence of deep and lobar intracerebral hemorrhage in whites, blacks, and Hispanics.," *Neurology*, vol. 65, no. 4, pp. 518–22, 2005.
118. P. M. Lavados, C. Sacks, L. Prina, A. Escobar, C. Tossi, F. Araya i wsp., "Incidence, 30-day case-fatality rate, and prognosis of stroke in Iquique, Chile: a 2-year community-based prospective study (PISCIS project).," *Lancet (London, England)*, vol. 365, no. 9478, pp. 2206–2215, 2005.
119. S. Lavy, E. Melamed, E. Cahane, A. Carmon, "Hypertension and Diabetes as Risk Factors in Stroke Patients," *Stroke*, vol. 4, no. 5, pp. 751–759, 1973.
120. P. Lambert, A. K. Barlow, B. A. Chromy, C. Edwards, R. Freed, M. Liosatos i wsp., "Diffusible, nonfibrillar ligands derived from Abeta1-42 are potent central nervous system neurotoxins.," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 95, no. 11, pp. 6448–6453, 1998.
121. O. Lao, T. T. Lu, M. Nothnagel, O. Junge, S. Freitag-Wolf, A. Caliebe i wsp., "Correlation between Genetic and Geographic Structure in Europe," *Current Biology*, vol. 19, no. 16, pp. 1241-1248, 2008.
122. S.-H. Lee, W.-S. Ryu, J.-K. Roh, "Cerebral microbleeds are a risk factor for warfarin-related intracerebral hemorrhage," *Neurology*, vol. 72, no. 2, pp. 171–176, 2009.

123. S. Levy, M. Jaskolski, A. Grubb, "The role of cystatin C in cerebral amyloid angiopathy and stroke: cell biology and animal models.," *Brain Pathol.*, vol. 16, no. 1, pp. 60–70, 2006.
124. C. B. Lim, R. A. S. Ariëns, A. M. Carter, J. W. Weisel, P. J. Grant, "Genetic regulation of fibrin structure and function: complex gene-environment interactions may modulate vascular risk.," *Lancet (London, England)*, vol. 361, no. 9367, pp. 1424–1431, 2003.
125. S. W. Liu, S. Bin Qiao, J. S. Yuan, D. Q. Liu, "Association of plasma visfatin levels with inflammation, atherosclerosis and acute coronary syndromes (ACS) in humans," *Clin. Endocrinol. (Oxf.)*, vol. 71, no. 2, pp. 202–207, 2009.
126. R. Lozano, M. Naghavi, K. Foreman, S. Lim, K. Shibuya, V. Aboyans i wsp., "Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010," *Lancet*, vol. 380, no. 9859, pp. 2095–2128, 2012.
127. M. B. Maas, F. Z. Caprio, N. F. Rosenberg, A. M. Naidech, "Predictors of Intraventricular Extension of Intracerebral Hemorrhage Confounded by Antithrombotic Medication Exposure," *Crit. Care Med.*, vol. 41, no. 11, p. e394, 2013.
128. J. Maghzal, S. O. Brennan, P. M. George, "Fibrinogen B β polymorphisms do not directly contribute to an altered in vitro clot structure in humans," *Thromb. Haemost.*, vol. 90, no. 6, pp. 1021–1028, 2003.
129. R. A. R. Mahfouz, A. S. Sabbagh, D. M. R. Shammaa, Z. K. Otrock, G. S. Zaatari, A. T. Taher, "Factor XIII gene V34L mutation in the Lebanese population: Another unique feature in this community?," *Mol. Biol. Rep.*, vol. 35, no. 3, pp. 375–378, 2008.
130. G. Mancia, R. Fagard, K. Narkiewicz, J. Redon, A. Zanchetti, M. Böhm i wsp., "2013 ESH/ESC Practice Guidelines for the Management of Arterial Hypertension," *Blood Press.*, vol. 23, no. 1, pp. 3–16, 2014.
131. B. Marsh, R. F. Gottesman, A. E. Hillis, J. Maygers, E. Lawrence, R. H. Llinas, "Predicting symptomatic intracerebral hemorrhage versus lacunar disease in patients with longstanding hypertension," *Stroke*, vol. 45, no. 6, pp. 1679–1683, 2014.
132. C. Marsik, R. Sunder-Plassmann, B. Jilma, F. M. Kovar, C. Mannhalter, O. Wagner i wsp., "The C-reactive protein +1444C/T alteration modulates the inflammation and coagulation response in human endotoxemia," *Clin. Chem.*, vol. 52, no. 10, pp. 1952–1957, 2006.
133. M. Martiskainen, N. Oksala, T. Pohjasvaara, M. Kaste, A. Oksala, P. J. Karhunen, T. Erkinjuntti, "Beta-fibrinogen gene promoter A –455 allele associated with poor

- longterm survival among 55–71 years old Caucasian women in Finnish stroke cohort,” *BMC Neurol.*, vol. 14, no. 1, p. 137, 2014.
134. M. O. McCarron, J. A. Nicoll, J. W. Ironside, S. Love, M. J. Alberts, I. Bone, “Cerebral amyloid angiopathy-related hemorrhage. Interaction of APOE epsilon2 with putative clinical risk factors.,” *Stroke*, vol. 30, no. 8, pp. 1643–1646, 1999.
 135. J. McDonald, P. Bayrak-Toydemir, R. E. Pyeritz, “Hereditary hemorrhagic telangiectasia: An overview of diagnosis, management, and pathogenesis,” *Genet. Med.*, vol. 13, no. 7, pp. 607–616, 2011.
 136. J. E. McDonald, F. J. Miller, S. E. Hallam, L. Nelson, D. A. Marchuk, K. J. Ward, “Clinical manifestations in a large hereditary hemorrhagic telangiectasia (HHT) type 2 kindred.,” *Am. J. Med. Genet.*, vol. 93, no. 4, pp. 320–327, 2000.
 137. G. McGeer, K. Yasojima, C. Schwab, P. L. McGeer, “The pentraxins: possible role in Alzheimer’s disease and other innate inflammatory diseases.,” *Neurobiol. Aging*, vol. 22, no. 6, pp. 843–848.
 138. J. S. McKinney W. J. Kostis, “Statin therapy and the risk of intracerebral hemorrhage: A meta-analysis of 31 randomized controlled trials,” *Stroke*, vol. 43, no. 8, pp. 2149–2156, 2012.
 139. A. Meretoja, D. Strbian, J. Putaala, S. Curtze, E. Haapaniemi, S. Mustanoja i wsp., “SMASH-U: A Proposal for Etiologic Classification of Intracerebral Hemorrhage,” *Stroke*, vol. 43, no. 10, pp. 2592–2597, 2012.
 140. M. P. de Maat, J. J. Kastelein, J. W. Jukema, A. H. Zwinderman, H. Jansen, B. Groenemeier i wsp., “-455G/A polymorphism of the beta-fibrinogen gene is associated with the progression of coronary atherosclerosis in symptomatic men: proposed role for an acute-phase reaction pattern of fibrinogen. REGRESS group.,” *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 18, no. 2, pp. 265–271, 1998.
 141. R. Monforte, R. Estruch, F. Graus, J. M. Nicolas, A. Urbano-Marquez, “High ethanol consumption as risk factor for intracerebral hemorrhage in young and middle-aged people,” *Stroke*, vol. 21, no. 11, pp. 1529–1532, 1990.
 142. C. J. L. Murray, T. Vos, R. Lozano, M. Naghavi, A. D. Flaxman, C. Michaud i wsp., “Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990-2010: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010,” *Lancet*, vol. 380, no. 9859, pp. 2197–2223, 2012.

143. T. Nakajima, N. Ota, H. Yoshida, S. Watanabe, T. Suzuki, M. Emi, "Allelic variants in the interleukin-6 gene and essential hypertension in Japanese women," *Genes Immun.*, vol. 1, no. 2, pp. 115–119, 1999.
144. L. Navarro-Núñez, M. L. Lozano, J. Rivera, J. Corral, V. Roldán, R. González-Conejero i wsp., "The association of the beta1-tubulin Q43P polymorphism with intracerebral hemorrhage in men.," *Haematologica*, vol. 92, no. 4, pp. 513–518, 2007.
145. G. Nilsson, M. Lekander, T. Åkerstedt, J. Axelsson, M. Ingre, "Diurnal Variation of Circulating Interleukin-6 in Humans: A Meta-Analysis," *PLoS One*, vol. 11, no. 11, p. e0165799, 2016.
146. J. Novembre, T. Johnson, K. Bryc, Z. Kutalik, A. R. Boyko, A. Auton i wsp., "Genes mirror geography within Europe.," *Nature*, vol. 456, no. 7218, pp. 98–101, 2008.
147. M. Ogilvie, M. S. Fife, S. D. Thompson, N. Twine, M. Tsoras, M. Moroldo i wsp., "The -174G allele of the interleukin-6 gene confers susceptibility to systemic arthritis in children: a multicenter study using simplex and multiplex juvenile idiopathic arthritis families.," *Arthritis Rheum.*, vol. 48, no. 11, pp. 3202–3206, 2003.
148. S. Ognjanovic, J. Yamamoto, B. Saltzman, A. Franke, M. Ognjanovic, L. Yokochi i wsp., "Serum CRP and IL-6, genetic variants and risk of colorectal adenoma in a multiethnic population," *Cancer Causes Control*, vol. 21, no. 7, pp. 1131–1138, 2010.
149. S. S. de Oliveira, P. R. G. Cardoso, E. V. de A. Lima, M. C. Pereira, A. L. B. P. Duarte, I. da R. Pitta i wsp., "IL-17A, IL-22, IL-6, and IL-21 Serum Levels in Plaque-Type Psoriasis in Brazilian Patients," *Mediators Inflamm.*, vol. 2015, pp. 1–5, 2015.
150. S. H. Opdal, T. O. Rognum, "The IL6 -174G/C polymorphism and sudden infant death syndrome.," *Hum. Immunol.*, vol. 68, no. 6, pp. 541–543, 2007.
151. D. Owczarek, D. Cibor, K. Sałapa, M. K. Głowacki, T. Mach, A. Undas, "Reduced Plasma Fibrin Clot Permeability and Susceptibility to Lysis in Patients with Inflammatory Bowel Disease," *Inflamm. Bowel Dis.*, vol. 19, no. 12, pp. 2616–2624, 2013.
152. F. Palm, C. Urbanek, S. Rose, F. Bugge, B. Bode, M. G. Hennerici i wsp., "Stroke incidence and survival in Ludwigshafen am Rhein, Germany: The Ludwigshafen Stroke Study (LuSSt)," *Stroke*, vol. 41, no. 9, pp. 1865–1870, 2010.
153. J. S. Pankow, A. R. Folsom, M. Cushman, I. B. Borecki, P. N. Hopkins, J. H. Eckfeldt, R. P. Tracy, "Familial and genetic determinants of systemic markers of inflammation: the NHLBI family heart study.," *Atherosclerosis*, vol. 154, no. 3, pp. 681–689, 2001.

154. L. Pantoni, "Cerebral small vessel disease: from pathogenesis and clinical characteristics to therapeutic challenges," *Lancet Neurol.*, vol. 9, no. 7, pp. 689–701, 2010.
155. J. Patra, B. Taylor, H. Irving, M. Roerecke, D. Baliunas, S. Mohapatra, J. Rehm, "Alcohol consumption and the risk of morbidity mortality for different stroke types--a systematic review and meta-analysis.," *BMC Public Health*, vol. 10, p. 258, 2010.
156. L. Pawlikowska, M. N. Tran, A. S. Achrol, C. E. McCulloch, C. Ha, D. L. Lind i wsp., "Polymorphisms in genes involved in inflammatory and angiogenic pathways and the risk of hemorrhagic presentation of brain arteriovenous malformations.," *Stroke*, vol. 35, no. 10, pp. 2294–2300, 2004.
157. G. Peck, L. Smeeth, J. Whittaker, J. P. Casas, A. Hingorani, P. Sharma, "The Genetics of Primary Haemorrhagic Stroke, Subarachnoid Haemorrhage and Ruptured Intracranial Aneurysms in Adults," *PLoS One*, vol. 3, no. 11, p. e3691, 2008.
158. T. Pessi, C. Eklund, H. Huhtala, O. T. Raitakari, M. Juonala, M. Kähönen i wsp., "CRP and FCGR2A genes have an epistatic effect on carotid artery intima-media thickness: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study," *Int. J. Immunogenet.*, vol. 36, no. 1, pp. 39–45, 2009.
159. J. Pera, A. Slowik, T. Dziedzic, R. Pulyk, D. Wloch, A. Szczudlik, "Glutathione peroxidase 1 C593T polymorphism is associated with lobar intracerebral hemorrhage.," *Cerebrovasc. Dis.*, vol. 25, no. 5, pp. 445–449, 2008.
160. J. Pera, A. Undas, R. Topor-Madry, J. Jagiella, A. Klimkowicz-Mrowiec, A. Slowik, "Fibrin Clot Properties in Acute Stroke: What Differs Cerebral Hemorrhage From Cerebral Ischemia?," *Stroke.*, pp. 3–5, 2012.
161. A. Pezzini, M. Grassi, M. Paciaroni, A. Zini, G. Silvestrelli, E. Del Zotto i wsp., "Antithrombotic medications and the etiology of intracerebral hemorrhage MUCH-Italy," *Neurology*, vol. 82, no. 6, pp. 529–535, 2014.
162. M. M. F. Poels, M. A. Ikram, A. Van Der Lugt, A. Hofman, G. P. Krestin, M. M. B. Breteler, M. W. Vernooij, "Incidence of cerebral microbleeds in the general population: The Rotterdam Scan Study," *Stroke*, vol. 42, no. 3, pp. 656–661, 2011.
163. R. Pola, A. Flex, E. Gaetani, A. D. Lago, L. Gerardino, P. Pola, R. Bernabei, "The -174 G/C polymorphism of the interleukin-6 gene promoter is associated with Alzheimer's disease in an Italian population [corrected].," *Neuroreport*, vol. 13, no. 13, pp. 1645–1647, 2002.

164. K. Popko, E. Gorska, U. Demkow, "Influence of interleukin-6 and G174C polymorphism in IL-6 gene on obesity and energy balance.," *Eur. J. Med. Res.*, vol. 15 Suppl 2, pp. 123–127, 2010.
165. F. Radmanesh, G. J. Falcone, C. D. Anderson, D. McWilliams, W. J. Devan, W. M. Brown i wsp., "Rare Coding Variation and Risk of Intracerebral Hemorrhage," *Stroke*, vol. 46, no. 8, pp. 2299–2301, 2015.
166. J. Rankin, "Cerebral Vascular Accidents in Patients over the Age of 60: II. Prognosis," *Scott. Med. J.*, vol. 2, no. 5, pp. 200–215, 1957.
167. G. Ravaglia, F. Paola, F. Maioli, M. Martelli, F. Montesi, L. Bastagli i wsp., "Interleukin-1 β and interleukin-6 gene polymorphisms as risk factors for AD: A prospective study," *Exp. Gerontol.*, vol. 41, no. 1, pp. 85–92, 2006.
168. C. Reitz, K. Berger, M. P. M. de Maat, M. Stoll, F. Friedrichs, I. Kardys i wsp., "CRP gene haplotypes, serum CRP, and cerebral small-vessel disease: the Rotterdam Scan Study and the MEMO Study.," *Stroke*, vol. 38, no. 8, pp. 2356–2359, 2007.
169. B. Reuter, P. Bugert, M. Stroick, S. Bukow, M. Griebel, M. G. Hennerici, M. Fatar, "TIMP-2 Gene Polymorphism Is Associated with Intracerebral Hemorrhage," *Cerebrovasc. Dis.*, vol. 28, no. 6, pp. 558–563, 2009.
170. B. Rhodes, A. Wong, S. V Navarra, C. Villamin, T. J. Vyse, "Genetic determinants of basal C-reactive protein expression in Filipino systemic lupus erythematosus families," *Genes Immun.*, vol. 9, no. 2, pp. 153–160, 2008.
171. F. Riant, M. Cecillon, P. Saugier-veber, E. Tournier-Lasserre, "CCM molecular screening in a diagnosis context: novel unclassified variants leading to abnormal splicing and importance of large deletions," *Neurogenetics*, vol. 14, no. 2, pp. 133–141, 2013.
172. F. Rincon, R. H. Rossenwasser, A. Dumont, "The epidemiology of admissions of nontraumatic subarachnoid hemorrhage in the United States," *Neurosurgery*, vol. 73, no. 2, pp. 217–222, 2013.
173. E. Ringheim, A. M. Szczepanik, W. Petko, K. L. Burgher, S. Z. Zhu, C. C. Chao, "Enhancement of beta-amyloid precursor protein transcription and expression by the soluble interleukin-6 receptor/interleukin-6 complex.," *Brain Res. Mol. Brain Res.*, vol. 55, no. 1, pp. 35–44, 1998.
174. M. A. Ritter, D. W. Droste, K. Hegedüs, R. Szepesi, D. G. Nabavi, L. Csiba, E. B. Ringelstein, "Role of cerebral amyloid angiopathy in intracerebral hemorrhage in hypertensive patients.," *Neurology*, vol. 64, no. 7, pp. 1233–1237, 2005.

175. N. S. Rost, S. M. Greenberg, J. Rosand, "The genetic architecture of intracerebral hemorrhage," *Stroke*, vol. 39, no. 7, pp. 2166–2173, 2008.
176. A. Rosenberg, "Inflammation and White Matter Damage in Vascular Cognitive Impairment," *Stroke*, vol. 40, no. 3, Supplement 1, pp. S20–S23, 2009.
177. J. Rosand, E. M. Hylek, H. C. O'Donnell, S. M. Greenberg, "Warfarin-associated hemorrhage and cerebral amyloid angiopathy: a genetic and pathologic study," *Neurology*, vol. 55, no. 7, pp. 947–951, Oct. 2000.
178. M. Rothwell, S. C. Howard, D. A. Power, S. A. Gutnikov, A. Algra, J. van Gijn i wsp., "Fibrinogen Concentration and Risk of Ischemic Stroke and Acute Coronary Events in 5113 Patients With Transient Ischemic Attack and Minor Ischemic Stroke," *Stroke*, vol. 35, no. 10, pp. 2300–2305, 2004.
179. A. Rovelet-Lecrux, D. Hannequin, G. Raux, N. Le Meur, A. Laquerrière, A. Vital i wsp., "APP locus duplication causes autosomal dominant early-onset Alzheimer disease with cerebral amyloid angiopathy," *Nat. Genet.*, vol. 38, no. 1, pp. 24–26, 2006.
180. R. Rudnicka, A. Rumley, G. D. O. Lowe, D. P. Strachan, "Diurnal, Seasonal, and Blood-Processing Patterns in Levels of Circulating Fibrinogen, Fibrin D-Dimer, C-Reactive Protein, Tissue Plasminogen Activator, and von Willebrand Factor in a 45-Year-Old Population," *Circulation*, vol. 115, no. 8, pp. 996–1003, 2007.
181. D. Ryglewicz, D. Milewska, W. Lechowicz, M. Rószkiewicz, A. Czlonkowska, "Factors predicting early stroke fatality in Poland. Preliminary report of the Polish National Stroke Registry," *Neurol. Sci.*, vol. 24, no. 4, pp. 301–304, 2003.
182. K. Sagiv-Friedgut, A. Karban, B. Weiss, R. Shaoul, R. Shamir, Y. Bujanover i wsp., "Early-onset Crohn Disease Is Associated With Male Sex and a Polymorphism in the IL-6 Promoter," *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, vol. 50, no. 1, pp. 22–26, 2010.
183. A. Sakowicz, W. Fendler, M. Lelonek, B. Sakowicz, T. Pietrucha, "Genetic Polymorphisms and the Risk of Myocardial Infarction in Patients Under 45 Years of Age," *Biochem. Genet.*, vol. 51, no. 3–4, pp. 230–242, 2013.
184. M. Salonen, T. Vartio, K. Hedman, A. Vaheri, "Binding of fibronectin by the acute phase reactant C-reactive protein," *J. Biol. Chem.*, vol. 259, no. 3, pp. 1496–1501, 1984.
185. M. Satra, M. Samara, G. Wozniak, C. Tzavara, A. Kontos, V. Valotassiou i wsp., "Sequence variations in the FII, FV, F13A1, FGB and PAI-1 genes are associated with differences in myocardial perfusion," *Pharmacogenomics*, vol. 12, no. 2, pp. 195–203, 2011.

186. V. Scheller, A. Chalaris, D. Schmidt-Arras, S. Rose-John, "The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6," *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.*, vol. 1813, no. 5, pp. 878–888, 2011.
187. V. Schroeder, T. Chatterjee, H. P. Kohler, "Influence of blood coagulation factor XIII and FXIII Val34Leu on plasma clot formation measured by thrombelastography," *Thromb. Res.*, vol. 104, no. 6, pp. 467–474, 2001.
188. N. Shibata, T. Ohnuma, T. Takahashi, H. Baba, T. Ishizuka, M. Ohtsuka i wsp., "Effect of IL-6 polymorphism on risk of Alzheimer disease: Genotype-phenotype association study in Japanese cases," *Am. J. Med. Genet.*, vol. 114, no. 4, pp. 436–439, 2002.
189. H. Shishehbor S. L. Hazen, "Inflammatory and oxidative markers in atherosclerosis: relationship to outcome," *Curr. Atheroscler. Rep.*, vol. 6, no. 3, pp. 243–250, 2004.
190. J. Sivenius, J. Tuomilehto, P. Immonen-Räihä, M. Kaarisalo, C. Sarti, J. Torppa i wsp., FINSTROKE study, "Continuous 15-year decrease in incidence and mortality of stroke in Finland: the FINSTROKE study," *Stroke*, vol. 35, no. 2, pp. 420–5, 2004.
191. S. Sie, F. A. Sayed-Tabatabaei, H.-H. S. Oei, A. G. Uitterlinden, H. A. P. Pols, A. Hofman i wsp., "Interleukin 6 -174 G/C Promoter Polymorphism and Risk of Coronary Heart Disease: Results from the Rotterdam Study and a Meta-Analysis," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 26, no. 1, pp. 212–217, 2006.
192. K. Silander, M. Alanne, K. Kristiansson, O. Saarela, S. Ripatti, K. Auro i wsp., "Gender Differences in Genetic Risk Profiles for Cardiovascular Disease," *PLoS One*, vol. 3, no. 10, p. e3615, 2008.
193. M. Slevin, S. Matou, Y. Zeinolabediny, R. Corpas, R. Weston, D. Liu i wsp., "Monomeric C-reactive protein-a key molecule driving development of Alzheimer's disease associated with brain ischaemia?," *Sci. Rep.*, vol. 5, no. 1, p. 13281, 2015.
194. A. Słowik, A. Borratynska, J. Pera, M. Betlej, T. Dziedzic, T. Krzyszkowski i wsp., "II genotype of the angiotensin-converting enzyme gene increases the risk for subarachnoid hemorrhage from ruptured aneurysm," *Stroke*, vol. 35, no. 7, pp. 1594–1597, 2004.
195. A. Słowik, T. Dziedzic, J. Pera, D. A. Figlewicz, A. Szczudlik, "Coagulation factor XIII Val34Leu polymorphism in patients with small vessel disease or primary intracerebral hemorrhage," *Cerebrovasc. Dis.*, vol. 19, no. 3, pp. 165–170, 2005.
196. A. Słowik, W. Turaj, G. Zwolinska, T. Róg, T. Dziedzic, J. Pera i wsp., "Stroke attack rates and case fatality in the Krakow Stroke Registry. Częstość występowania i

- śmiertelność z powodu udaru mózgu w Krakowskim Rejestrze Udarowym,” vol. 406, pp. 291–295, 2007.
197. H. Sprague, R. A. Khalil, “Inflammatory cytokines in vascular dysfunction and vascular disease.,” *Biochem. Pharmacol.*, vol. 78, no. 6, pp. 539–52, 2009.
 198. S. Stahl, S. Gaetzner, K. Voss, B. Brackertz, E. Schleider, O. Sürücü i wsp., “Novel CCM1, CCM2, and CCM3 mutations in patients with cerebral cavernous malformations: in-frame deletion in CCM2 prevents formation of a CCM1/CCM2/CCM3 protein complex,” *Hum. Mutat.*, vol. 29, no. 5, pp. 709–717, 2008.
 199. F. Standeven, P. J. Grant, A. M. Carter, T. Scheiner, J. W. Weisel, R. A. S. Ariëns, “Functional analysis of the fibrinogen Aalpha Thr312Ala polymorphism: effects on fibrin structure and function.,” *Circulation*, vol. 107, no. 18, pp. 2326–2330, 2003.
 200. M. Strand, I. Söderström, P.-G. Wiklund, G. Hallmans, L. Weinehall, S. Söderberg, T. Olsson, “Polymorphisms at the Osteoprotegerin and Interleukin-6 Genes in Relation to First-Ever Stroke,” *Cerebrovasc. Dis.*, vol. 24, no. 5, pp. 418–425, 2007.
 201. F. Strang, A. Scheichl, Y.-C. Chen, X. Wang, N.-M. Htun, N. Bassler i wsp., “Amyloid Plaques Dissociate Pentameric to Monomeric C-Reactive Protein: A Novel Pathomechanism Driving Cortical Inflammation in Alzheimer’s Disease?,” *Brain Pathol.*, vol. 22, no. 3, pp. 337–346, 2012.
 202. D. Sturgeon, A. R. Folsom, W. T. Longstreth, E. Shahar, W. D. Rosamond, M. Cushman, “Risk factors for intracerebral hemorrhage in a pooled prospective study.,” *Stroke.*, vol. 38, no. 10, pp. 2718–2725, 2007.
 203. L. Sudlow, C. P. Warlow, “Comparable studies of the incidence of stroke and its pathological types: results from an international collaboration. International Stroke Incidence Collaboration.,” *Stroke*, vol. 28, no. 3, pp. 491–499, 1997.
 204. G. Sulter, C. Steen, J. De Keyser, “Use of the Barthel index and modified Rankin scale in acute stroke trials.,” *Stroke.*, vol. 30, no. 8, pp. 1538–1541, 1999.
 205. K. Sundquist, X. Li, K. Hemminki, “Familial Risk of Ischemic and Hemorrhagic Stroke: A Large-Scale Study of the Swedish Population,” *Stroke*, vol. 37, no. 7, pp. 1668–1673, 2006.
 206. G. R. Sutherland, R. N. Auer, “Primary intracerebral hemorrhage,” *J. Clin. Neurosci.*, vol. 13, no. 5, pp. 511–517, 2006.

207. J. C. van Swieten, P. J. Koudstaal, M. C. Visser, H. J. Schouten, J. van Gijn, "Interobserver agreement for the assessment of handicap in stroke patients.," *Stroke*, vol. 19, no. 5, pp. 604–607, 1988.
208. A. Tanaka, Y. Ueno, Y. Nakayama, K. Takano, S. Takebayashi, "Small Chronic Hemorrhages and Ischemic Lesions in Association With Spontaneous Intracerebral Hematomas," *Stroke*, vol. 30, no. 8, pp. 1637–1642, 1999.
209. Task Force Members, G. Montalescot, U. Sechtem, S. Achenbach, F. Andreotti, C. Arden i wsp., "2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease: the Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology.," *Eur. Heart J.*, vol. 34, no. 38, pp. 2949–3003, 2013.
210. F. Terry, V. Loukaci, F. R. Green, "Cooperative Influence of Genetic Polymorphisms on Interleukin 6 Transcriptional Regulation," *J. Biol. Chem.*, vol. 275, no. 24, pp. 18138–18144, 2000.
211. C. Tian, R. Kosoy, R. Nassir, A. Lee, P. Villoslada, L. Klareskog i wsp., "European population genetic substructure: further definition of ancestry informative markers for distinguishing among diverse European ethnic groups.," *Mol. Med.*, vol. 15, no. 11–12, pp. 371–383, 2009.
212. K. Toyoda, M. Yasaka, K. Iwade, K. Nagata, Y. Koretsune, T. Sakamoto i wsp., "Dual antithrombotic therapy increases severe bleeding events in patients with stroke and cardiovascular disease: a prospective, multicenter, observational study.," *Stroke.*, vol. 39, no. 6, pp. 1740–1745, 2008.
213. A. Trumbo, M. C. Maurer, "Examining thrombin hydrolysis of the factor XIII activation peptide segment leads to a proposal for explaining the cardioprotective effects observed with the factor XIII V34L mutation.," *J. Biol. Chem.*, vol. 275, no. 27, pp. 20627–20631, 2000.
214. A. Undas, W. J. Sydor, K. Brummel, J. Musial, K. G. Mann, A. Szczeklik, "Aspirin alters the cardioprotective effects of the factor XIII Val34Leu polymorphism.," *Circulation*, vol. 107, no. 1, pp. 17–20, 2003.
215. A. Undas, K. Zawilska, M. Ciesla-Dul, A. Lehmann-Kopydlowska, A. Skubiszak, K. Ciepluch, W. Tracz, "Altered fibrin clot structure/function in patients with idiopathic venous thromboembolism and in their relatives," *Blood*, vol. 114, no. 19, pp. 4272–4278, 2009.
216. A. Undas, R. S. Ariëns, "Fibrin clot structure and function: A role in the pathophysiology of arterial and venous thromboembolic diseases," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 31, no. 12, 2011.

217. P. C. Underwood, B. Chamarthi, J. S. Williams, B. Sun, A. Vaidya, B. A. Raby i wsp., "Replication and meta-analysis of the gene-environment interaction between body mass index and the interleukin-6 promoter polymorphism with higher insulin resistance.," *Metabolism.*, vol. 61, no. 5, pp. 667–671, 2012.
218. K. Vahedi, N. Kubis, M. Boukobza, M. Arnoult, P. Massin, E. Tournier-Lasserre, M.-G. Bousser, "COL4A1 Mutation in a Patient With Sporadic, Recurrent Intracerebral Hemorrhage," *Stroke*, vol. 38, no. 5, pp. 1461–1464, 2007.
219. A. Vickers, F. R. Green, C. Terry, B. M. Mayosi, C. Julier, M. Lathrop i wsp., "Genotype at a promoter polymorphism of the interleukin-6 gene is associated with baseline levels of plasma C-reactive protein.," *Cardiovasc. Res.*, vol. 53, no. 4, pp. 1029–34, 2002.
220. J. Volanakis, "Human C-reactive protein: expression, structure, and function," *Mol. Immunol.*, vol. 38, pp. 189–197, 2001.
221. K. Voss, S. Stahl, E. Schleider, S. Ullrich, J. Nickel, T. D. Mueller, U. Felbor, "CCM3 interacts with CCM2 indicating common pathogenesis for cerebral cavernous malformations.," *Neurogenetics*, vol. 8, no. 4, pp. 249–256, 2007.
222. C. van Walraven, R. G. Hart, D. E. Singer, A. Laupacis, S. Connolly, P. Petersen i wsp., "Oral anticoagulants vs aspirin in nonvalvular atrial fibrillation: an individual patient meta-analysis.," *JAMA*, vol. 288, no. 19, pp. 2441–2448, 2002.
223. Q. Wang, H. Ding, J. Tang, L. Zhang, Y. Xu, J. Yan i wsp., "C-reactive protein polymorphisms and genetic susceptibility to ischemic stroke and hemorrhagic stroke in the Chinese Han population.," *Acta Pharmacol. Sin.*, vol. 30, no. 3, pp. 291–298, 2009.
224. D. Warner, M. W. Mansfield, P. J. Grant, "Coagulation factor XIII and cardiovascular disease in UK Asian patients undergoing coronary angiography.," *Thromb. Haemost.*, vol. 85, no. 3, pp. 408–411, 2001.
225. U. Wartiovaara, M. Perola, H. Mikkola, K. Tötterman, V. Savolainen, A. Penttilä i wsp., "Association of FXIII Val34Leu with decreased risk of myocardial infarction in Finnish males.," *Atherosclerosis*, vol. 142, no. 2, pp. 295–300, 1999.
226. J. Wei, H. Xu, J. L. Davies, G. P. Hemmings, "Increase of plasma IL-6 concentration with age in healthy subjects.," *Life Sci.*, vol. 51, no. 25, pp. 1953–1956, 1992.
227. C. Weimar, C. Weber, M. Wagner, O. Busse, R. L. Haberl, K. W. Lauterbach, H. C. Diener, "Management patterns and health care use after intracerebral hemorrhage.

- a cost-of-illness study from a societal perspective in Germany.," *Cerebrovasc. Dis.*, vol. 15, no. 1–2, pp. 29–36, 2003.
228. Y.-C. Weng, A. Sonni, C. Labelle-Dumais, M. de Leau, W. B. Kauffman, M. Jeanne i wsp., "COL4A1 mutations in patients with sporadic late-onset intracerebral hemorrhage.," *Ann. Neurol.*, vol. 71, no. 4, pp. 470–477, 2012.
229. B. Wiberg, J. Sundström, B. Zethelius, L. Lind, "Insulin sensitivity measured by the euglycaemic insulin clamp and proinsulin levels as predictors of stroke in elderly men.," *Diabetologia*, vol. 52, no. 1, pp. 90–96, 2009.
230. R. G. Wieberdink, P. J. Koudstaal, A. Hofman, J. C. M. Witteman, M. M. B. Breteler, M. Arfan Ikram, "Insulin Resistance and the Risk of Stroke and Stroke Subtypes in the Nondiabetic Elderly," *Am. J. Epidemiol.*, vol. 176, no. 8, pp. 699–707, 2012.
231. J. Wipff, P. Dieudé, J. Avouac, E. Hachulla, J.-L. Cracowski, E. Diot i wsp., "Association study of CRP gene in systemic sclerosis in European Caucasian population.," *Rheumatol. Int.*, vol. 34, no. 3, pp. 389–392, 2014.
232. H. M. Wisniewski, J. Weigel, "Migration of perivascular cells into the neuropil and their involvement in beta-amyloid plaque formation.," *Acta Neuropathol.*, vol. 85, no. 6, pp. 586–595, 1993.
233. World Health Organisation, "Global burden of disease. Geneva: WHO", WHO Press, Geneva 2010.
234. D. A. Wolfe, K. Tilling, R. Beech, A. G. Rudd, "Variations in Case Fatality and Dependency From Stroke in Western and Central Europe," *Stroke*, vol. 30, no. 2, pp. 350–356, 1999.
235. C. D. Wolfe, M. Giroud, P. Kolominsky-Rabas, R. Dundas, M. Lemesle, P. Heuschmann, A. Rudd, "Variations in stroke incidence and survival in 3 areas of Europe. European Registries of Stroke (EROS) Collaboration.," *Stroke.*, vol. 31, no. 9, pp. 2074–2079, 2000.
236. C. D. Wolfe, "Incidence of stroke in Europe at the beginning of the 21st century," *Stroke*, vol. 40, no. 5, pp. 1557–1563, 2009.
237. D. Woo, L. R. Sauerbeck, B. M. Kissela, J. C. Khoury, J. P. Szaflarski, J. Gebel i wsp., "Genetic and environmental risk factors for intracerebral hemorrhage: Preliminary results of a population-based study," *Stroke*, vol. 33, no. 5, pp. 1190–1195, 2002.
238. D. Woo, M. Haverbusch, P. Sekar, B. Kissela, J. Khoury, A. Schneider i wsp., "Effect of untreated hypertension on hemorrhagic stroke," *Stroke*, vol. 35, no. 7, pp. 1703–1708, 2004.

239. D. Woo, R. Kaushal, R. Chakraborty, J. Woo, M. Haverbusch, P. Sekar i wsp., "Association of Apolipoprotein E4 and Haplotypes of the Apolipoprotein E Gene With Lobar Intracerebral Hemorrhage," *Stroke*, vol. 36, no. 9, pp. 1874–1879, 2005.
240. D. Woo, G. J. Falcone, W. J. Devan, W. M. Brown, A. Biffi, T. D. Howard i wsp., "Meta-analysis of genome-wide association studies identifies 1q22 as a susceptibility locus for intracerebral hemorrhage.," *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 94, no. 4, pp. 511–521, 2014.
241. J. Xia, Q.-D. Yang, Q.-M. Yang, H.-W. Xu, Y.-H. Liu, L. Zhang i wsp., "Apolipoprotein H gene polymorphisms and risk of primary cerebral hemorrhage in a Chinese population.," *Cerebrovasc. Dis.*, vol. 17, no. 2–3, pp. 197–203, 2004.
242. Y. Yamada, "Identification of Genetic Factors and Development of Genetic Risk Diagnosis Systems for Cardiovascular Diseases and Stroke," *Circ. J.*, vol. 70, no. October, pp. 1240–1248, 2006.
243. Y. Yamada, N. Metoki, H. Yoshida, K. Satoh, S. Ichihara, K. Kato i wsp., "Genetic Risk for Ischemic and Hemorrhagic Stroke," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 26, no. 8, pp. 1920–1925, 2006.
244. P. Yan, X. Hu, H. Song, K. Yin, R. J. Bateman, J. R. Cirrito i wsp., "Matrix Metalloproteinase-9 Degrades Amyloid- β Fibrils in Vitro and Compact Plaques in Situ," *J. Biol. Chem.*, vol. 281, no. 34, pp. 24566–24574, 2006.
245. Z. Yang, Y. Liang, B. Qin, R. Zhong, "A meta-analysis of the association of IL-6 –174 G/C and –572 G/C polymorphisms with systemic lupus erythematosus risk," *Rheumatol. Int.*, vol. 34, no. 2, pp. 199–205, 2014.
246. J. S. Yudkin, C. D. Stehouwer, J. J. Emeis, S. W. Coppack, "C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue?," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 19, no. 4, pp. 972–978, 1999.
247. J. S. Yudkin, M. Kumari, S. E. Humphries, V. Mohamed-Ali, "Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link?," *Atherosclerosis*, vol. 148, no. 2, pp. 209–214, 2000.
248. J. Zacho, A. Tybjaerg-Hansen, J. S. Jensen, P. Grande, H. Sillesen, B. G. Nordestgaard, "Genetically Elevated C-Reactive Protein and Ischemic Vascular Disease," *N. Engl. J. Med.*, vol. 359, no. 18, pp. 1897–1908, 2008.

249. B. Zahuranec, L. D. Lisabeth, B. N. Sánchez, M. A. Smith, D. L. Brown, N. M. Garcia i wsp., "Intracerebral hemorrhage mortality is not changing despite declining incidence," *Neurology*, vol. 82, no. 24, pp. 2180–2186, 2014.
250. J. S. Zawistowski, L. Stalheim, M. T. Uhlik, A. N. Abell, B. B. Ancrile, G. L. Johnson, D. A. Marchuk, "CCM1 and CCM2 protein interactions in cell signaling: implications for cerebral cavernous malformations pathogenesis," *Hum. Mol. Genet.*, vol. 14, no. 17, pp. 2521–2531, 2005.
251. R. Y. L. Zee, S. Germer, A. Thomas, A. Raji, B. Rhee, P. M. Ridker i wsp., "C-reactive protein gene variation and type 2 diabetes mellitus: a case-control study.," *Atherosclerosis*, vol. 197, no. 2, pp. 931–6, 2008.
252. B. Zeng, A. Prasan, K. C. Fung, V. Solanki, D. Bruce, S. B. Freedman, D. Brieger, "Elevated circulating levels of matrix metalloproteinase-9 and -2 in patients with symptomatic coronary artery disease," *Intern. Med. J.*, vol. 35, no. 6, pp. 331–335, 2005.
253. Y. Zeng, L. Zhang, Z. Hu, Q. Yang, M. Ma, B. Liui i wsp., "Fibrinogen polymorphisms associated with sporadic cerebral hemorrhage in a Chinese population," *J. Clin. Neurosci.*, vol. 19, no. 5, pp. 753–756, 2012.
254. R. Zhai, G. Liu, C. Yang, C. Huang, C. Wu, D. C. Christiani, "The G to C polymorphism at -174 of the interleukin-6 gene is rare in a Southern Chinese population.," *Pharmacogenetics*, vol. 11, no. 8, pp. 699–701, 2001.
255. J. Zhang, D. Rigamonti, H. C. Dietz, R. E. Clatterbuck, "Interaction between krit1 and malcavernin: implications for the pathogenesis of cerebral cavernous malformations.," *Neurosurgery*, vol. 60, no. 2, pp. 353–359; discussion 359, 2007.
256. J. Zhang, L. Yu, Y. Yin, Q. Lu, L. Lei, J. Xiao i wsp., "Association Between Two Functional Fibrinogen-Related Polymorphisms and Ischemic Stroke: A Case–Control Study," *Genet. Test. Mol. Biomarkers*, vol. 17, no. 11, pp. 789–793, 2013.
257. S. X. Zhang-Nunes, M. L. C. Maat-Schieman, S. G. van Duinen, R. A. C. Roos, M. P. Frosch, S. M. Greenberg, "The cerebral beta-amyloid angiopathies: hereditary and sporadic.," *Brain Pathol.*, vol. 16, no. 1, pp. 30–39, 2006.
258. C. Zheng, D. R. Huang, S. Bergenbrant, A. Sundblad, A. Osterborg, M. Björkholm i wsp., "Interleukin 6, tumour necrosis factor alpha, interleukin 1beta and interleukin 1 receptor antagonist promoter or coding gene polymorphisms in multiple myeloma.," *Br. J. Haematol.*, vol. 109, no. 1, pp. 39–45, 2000.

259. J. del Zoppo E. Mori, "Hematologic causes of intracerebral hemorrhage and their treatment.," *Neurosurg. Clin. N. Am.*, vol. 3, no. 3, pp. 637–658, 1992.

10. Załączniki

Załącznik nr 1

Zmodyfikowana skala Rankina

0	Pacjent nie zgłasza skarg.
1	Pacjent zgłasza niewielkie skargi, które nie wpływają w sposób istotny na jego tryb życia.
2	Niewielki stopień inwalidztwa. Objawy nieznacznie zmieniają dotychczasowy tryb życia, lecz nie ograniczają możliwości samodzielnego funkcjonowania. Nie jest zależny od otoczenia.
3	Średni stopień inwalidztwa. Objawy znacznie zmieniają dotychczasowy tryb życia i uniemożliwiają całkowicie niezależne funkcjonowanie.
4	Dość ciężki stopień inwalidztwa. Objawy zdecydowanie uniemożliwiają samodzielne życie. Nie jest konieczna ciągła opieka i pomoc osoby drugiej.
5	Bardzo ciężki stopień inwalidztwa. Pacjent całkowicie zależny od otoczenia. Konieczna stała pomoc osoby drugiej.

Załącznik nr 2

Skala Glasgow wyników końcowych

5	wynik leczenia - dobry; stan chorego – powrót do normalnego życia z okresu przed zachorowaniem bez lub z niewielkim deficytem neurologicznym lub poznawczym;
4	wynik leczenia - umiarkowana niesprawność; stan chorego - stwierdza się deficyt neurologiczny ale chory samodzielny; (mogą występować objawy dysfazji różnego stopnia, niedowład, ataksja oraz deficyty poznawcze i/lub zmiany osobowości)
3	wynik leczenia - poważna niesprawność; stan chorego – przytomny ale w pełni zależny od osób z otoczenia ze względu na niesprawność fizyczną lub poważne zaburzenia poznawcze, utrzymany cykl sen / (minimalna) reaktywność.
2	wynik leczenia - stan wegetatywny; stan chorego – nie stwierdza się funkcji korowych.
1	wynik leczenia - zgon.