

Wydział Lekarski Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego
w Krakowie

Wybrane powikłania narządowe w przebiegu
nadciśnienia tętniczego a markery przewlekłego
zapalenia.

Marek Jastrzębski

Praca doktorska

Bibl. Medyczna CM UJ



1816035761

Promotor:

Prof. dr hab. n. med. Kalina Kawecka-Jaszcz

I Klinika Kardiologii
Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego

Kraków 2003

*Pragnę podziękować
Pani Profesor Kalinie Kaweckiej-Jaszc,
której pomoc i zachęta
umożliwiły powstanie tej pracy.*

SPIS TREŚCI

SPIS TREŚCI	3
WYKAZ UŻYTYCH SKRÓTÓW	6
WSTĘP	8
Współwystępowanie czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego z nadciśnieniem tętniczym.	9
Ocena globalnego ryzyka w indywidualizacji terapii nadciśnienia tętniczego.	10
Markery zapalenia i infekcji	11
Białko C-reaktywne – marker przewlekłego zapalenia	12
Infekcja Chlamydia pneumoniae.....	14
1. Działanie miejscowe w ścianie naczyń.....	15
2. Działanie ogólnoustrojowe.....	16
Chlamydia pneumoniae a choroba niedokrwienna serca.....	16
Chlamydia pneumoniae a udar mózgu.....	17
Rola białek szoku cieplnego w patogenezie chorób o podłożu miażdżycowym.....	19
Infekcja CMV w patogenezie chorób o podłożu miażdżycowych.....	20
Fibrynogen – jako białko ostrej fazy i czynnik ryzyka miażdżycy.....	21
Wybrane zmiany i powikłania narządowe w przebiegu nadciśnienia tętniczego	22
Przerost mięśnia lewej komory serca.....	22
Pogrubienie kompleksu błony środkowej i wewnętrznej ściany tętnic szyjnych.....	23
Sztwność dużych tętnic – prędkość fali tętna.	25

Dysfunkcja rozkurczowa lewej komory.....	25
Uszkodzenie nerek w przebiegu nadciśnienia tętniczego – znaczenie kreatyninemii.....	26
HIPOTEZA BADAWCZA	27
Cele badania.....	28
METODYKA BADAŃ.....	29
Charakterystyka badanej grupy	29
Wywiad.....	31
Pomiary antropometryczne oraz pomiary ciśnienia tętniczego	31
Badania laboratoryjne	32
Białko C-reaktywne.....	33
Fibrynogen.....	33
Przeciwciała IgG skierowane przeciwko Chlamydia pneumoniae	34
Przeciwciała IgG przeciwko CMV	34
Przeciwciała przeciwko ludzkiemu białku szoku cieplnego HSP 60	35
Pozostałe oznaczenia biochemiczne:	35
Badanie echokardiograficzne	36
Badanie M-mode	36
Badania dopplerowskie	37
Badanie ultrasonograficzne grubości kompleksu błony środkowej i wewnętrznej tętnic szyjnych wspólnych	39
Badanie prędkości fali tętna	40
Analiza statystyczna:.....	41
WYNIKI	42

Charakterystyka badanej grupy	42
Poziom markerów zapalenia oraz przeciwciał	46
Białko C-reaktywne.....	53
Fibrynogen	57
Przeciwciała anty-Chlamydia pneumoniae, anty-CMV oraz anty-HSP60.	60
Wpływ infekcji na poziom markerów zapalenia	65
OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA.	66
Białko C-reaktywne.....	66
Infekcja Chlamydia pneumoniae i wirusem cytomegalii.	72
Białka szoku cieplnego	75
Fibrynogen	77
Wpływ infekcji na poziom markerów zapalnych i anty-HSP60	80
WNIOSKI.....	82
STRESZCZENIE	83
SPIS TABEL I RYCIN	87
TABELE.....	87
RYCINY.....	89
PIŚMIENICTWO	90

WYKAZ UŻYTYCH SKRÓTÓW

ABPM	- 24-godzinne automatyczne monitorowanie ciśnienia tętniczego krwi (ambulatory blood pressure monitoring)
ACC	- choroby powiązane (współistniejące wg PTNT) z nadciśnieniem tętniczym (associated clinical conditions)
anty-HSP60	- przeciwciała przeciwko białku szoku cieplnego 60
anty-Ch.p.	- przeciwciała przeciwko Chlamydia pneumoniae
anty-CMV	- przeciwciała przeciwko wirusowi cytomegalii
BMI	- wskaźnik masy ciała (body mass index)
ch.n.s.	- choroba niedokrwienna serca,
CRP	- białko C-reaktywne
CMV	- Cytomegalowirus
Ch.p.	- Chlamydia pneumoniae
CTK	- ciśnienie tętnicze krwi
CNS	- centralny system nerwowy
DNA	- kwas dezoksyrybonukleinowy
DT	- czas deceleracji fali E
E/A	- stosunek fali E do fali A napływu mitralnego
HDL	- lipoproteiny o dużej gęstości (high density lipoprotein)
HSP	- białka szoku cieplnego (heat shock protein)
ICAM-1	- molekula adhezyjna (intercellular adhesion molecule -1)
IVRT	- czas izowolumetrycznej relaksacji lewej komory (isovolumetric relaxation time)
IMT	- grubość kompleksu intima-media ściany tętnicy (intima-media thickness)
IL	- interleukina
LDL	- lipoproteiny o małej gęstości (low density lipoprotein)
LVM	- masa lewej komory (left ventricular mass)
L VH	- przerost mięśnia lewej komory serca (left ventricular hypertrophy)

LVMI	- indeks masy lewej komory (left ventricular mass index)
NT	- nadciśnienie tętnicze
PWV	- prędkość fali tętna (pulse wave velocity)
PCR	- łańcuchowa reakcja polimerazy (polymerase chain reaction)
TNF α	- czynnik martwicy nowotworu α (tumor necrosis factor α)
SAA	- surowiczy amyloid A (serum amyloid A)
TOD	- powikłania narządowe w przebiegu nadciśnienia (target organ damage)
WHO/ISH	- World Health Organisation/International Society of Hypertension
VCAM-1	- molekula adhezyjna VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule)
VSMC	- komórki mięśnie gładkich naczyń (vascular smooth muscle cells)

WSTĘP

Nadciśnienie tętnicze jest jedną z najbardziej rozpowszechnionych chorób. Na podstawie ostatnich badań epidemiologicznych (NATPOL III PLUS) szacuje się, że w Polsce ok. 8.8 miliona osób ma podwyższone ciśnienie tętnicze krwi (154). Wyniki dużych prospektywnych badań epidemiologicznych jednoznacznie wskazują na nadciśnienie tętnicze jako jeden z najważniejszych czynników ryzyka wystąpienia chorób układu sercowo-naczyniowego: choroby niedokrwiennej i niewydolności serca, udaru mózgu oraz niewydolności nerek. Na podstawie największych metaanaliz obejmujących prospektywne badania – Lewingtona i wsp. (milion osób) i McMahona i wsp (420 tyś osób) wiadomo, że wzrost wartości zarówno ciśnienia skurczowego jak i rozkurczowego wiąże się wprost proporcjonalnie ze wzrostem ryzyka już od 115/75 mmHg. Metaanaliza MacMahona wykazała, że wyższe o 5 mm rozkurczowe ciśnienie tętnicze zwiększa ryzyko wystąpienia udaru mózgu o 34 %, a choroby niedokrwiennej serca o 21% (74). W metaanalizie Lewingtona oszacowano, że wzrost skurczowego ciśnienia krwi o 20 mmHg lub rozkurczowego o 10 mmHg zwiększa ponad dwukrotnie ryzyko zgonu z powodu udaru mózgu oraz podobnie ryzyko zgonu z powodu choroby niedokrwiennej i innych przyczyn naczyniowych (63).

Współwystępowanie czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego z nadciśnieniem tętniczym.

Nadciśnienie jest określane jako choroba polimetaboliczna (125). Wynika to z współwystępowania z nadciśnieniem tętniczym licznych zaburzeń metabolicznych, będących czynnikami ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego. Zalicza się do nich zaburzenia lipidowe, otyłość, hiperurykemię, hiperinsulinemię oraz hiperglikemię (39). Współwystępowanie tych czynników wpływa na przebieg nadciśnienia tętniczego głównie poprzez zwiększenie globalnego ryzyka powikłań. Odgrywają one także pewną rolę w patogenezie nadciśnienia tętniczego, postuluje się tu udział otyłości (51) i hiperinsulinemii (42). Współwystępowanie z nadciśnieniem 2-3 czynników ryzyka stwierdzono u 22 % mężczyzn i 27 % kobiet w amerykańskiej populacji Framingham (50). Również w populacji Polski jak to wykazano w badaniu Pol-MONICA, obserwuje się częste współwystępowanie czynników ryzyka z nadciśnieniem tętniczym: hipercholesterolemii u 74 %, otyłości u 77 %, hiperfibrynogenemii u 21 % osób (109).

Przyczyny współwystępowania licznych czynników ryzyka nie są znane. Sugeruje się, że u podłoża tych zaburzeń może leżeć jeden podstawowy proces o szerszym spektrum obejmującym nie tylko nadciśnienie tętnicze, dyslipidemię, otyłość oraz insulinooporność lecz być może jeszcze inne zaburzenia. W ostatnich latach na bazie immunologicznej teorii miażdżycy coraz większą uwagę poświęca się zapalno-infekcyjnym czynnikom ryzyka. Najwięcej badań z tego zakresu dotyczy roli białek ostrej fazy: białka C-reaktywnego (CRP), fibrynogenu, oraz infekcji *Chlamydia pneumoniae* (Ch.p) i wirusem cytomegalii (CMV) (17;99;100;102;111). Wyniki ich wskazują na powiązania markerów zapalenia i infekcji ze zwiększonym ryzykiem występowania chorób układu sercowo-naczyniowego o podłożu miażdżycowym. Ostatnio pojawiły się doniesienia o występowaniu korelacji

między poziomem CRP a komponentami zespołu metabolicznego – podwyższonym ciśnieniem tętniczym krwi, otyłością, insulinoopornością, hipertriglicydemią i niskim poziomem cholesterolu HDL (98;151). Obserwowano korelację pomiędzy poziomem przeciwciał klasy IgG skierowanych przeciwko *Chlamydia pneumoniae* a nadciśnieniem tętniczym (14;92). Sugeruje to, że zapalno-infekcyjne czynniki ryzyka, podobnie jak klasyczne czynniki ryzyka, wykazują predyspozycję do współwystępowania z nadciśnieniem tętniczym i wskazuje na potrzebę poszerzenia pojęcia zespołu metabolicznego o komponentę zapalno-immunologiczną.

Ocena globalnego ryzyka w indywidualizacji terapii nadciśnienia tętniczego.

Głównym celem leczenia nadciśnienia tętniczego jest zmniejszenie zagrożenia incydentami sercowo-naczyniowymi i zgonem. Decyzja o wdrożeniu leczenia jest również w dużym stopniu uzależniona od oceny globalnego ryzyka powikłań sercowo-naczyniowych. Dlatego też wytyczne międzynarodowych towarzystw uważają wykrycie głównych współwystępujących czynników ryzyka za element podstawowej oceny klinicznej chorych z nadciśnieniem tętniczym (145). Do klasycznych czynników ryzyka zaliczamy: wiek, płeć, zaburzenia lipidowe, palenie papierosów, cukrzycę, obciążający wywiad rodzinny. W ostatnich latach poza klasycznymi czynnikami ryzyka coraz częściej do wskaźników zwiększonego ryzyka wystąpienia chorób o podłożu miażdżycowym zalicza się markery zapalenia (m.in. CRP, fibrynogen, osoczowy amyloid A, interleukina-6) oraz infekcji (przeciwciała anty-Ch.p., anty-CMV, anty-HSP60). Potwierdzają to liczne duże badania prospektywne m.in.: MRFIT, MONICA, Physicians' Health Study, Bruneck Study (54;55;57;100).

Różnice w całkowitym ryzyku powikłań sercowo-naczyniowych u osób z nadciśnieniem tętniczym są często w większym stopniu uzależnione od

obecności pozostałych współwystępujących czynników ryzyka niż od podwyższonych wartości ciśnienia tętniczego krwi (145). Klasyczne czynniki ryzyka tłumaczą tylko część obecnego ryzyka sercowo-naczyniowego (10). W obliczu tego ocena znaczenia nowych czynników ryzyka w chorobie nadciśnieniowej, jakimi są markery zapalenia oraz infekcji, może być bardzo istotna.

Markery zapalenia i infekcji

U znacznego odsetka osób z chorobami układu krążenia o podłożu miażdżycowym nie stwierdza się występowania głównych czynników ryzyka takich jak nadciśnienie tętnicze, hipercholesterolemia, palenie papierosów czy cukrzyca. (10). Obowiązująca obecnie teoria miażdżycy, nie umniejszając znaczenia klasycznych czynników ryzyka, kładzie nacisk na kluczową rolę procesów immunologiczno-zapalnych we wszystkich etapach rozwoju zmian miażdżycowych (65;107). Poszukiwania nowych czynników ryzyka zostały więc w znacznym stopniu ukierunkowane na badanie procesów mogących inicjować i podtrzymywać przewlekłe zmiany zapalne w ścianie naczyń tętniczych. Zakażenie bakteryjne czy wirusowe wywołujące uogólniony oraz miejscowy odczyn zapalny, a także indukujące odpowiedź immunologiczną mogło by stanowić taki czynnik. Spośród bakterii największym zainteresowaniem badaczy cieszy się *Chlamydia pneumoniae* (Ch.p), spośród wirusów - wirusy z rodziny *Herpesviridae*, zwłaszcza Cytomegalowirus (CMV). Niektóre z markerów przewlekłego procesu zapalnego są obecnie intensywnie badane jako potencjalnie nowe duże czynniki ryzyka miażdżycy. Zaliczają się do nich m.in. białko C-reaktywne i fibrynogen.

Potencjalnie rola zapalnych i infekcyjnych czynników ryzyka w nadciśnieniu tętniczym może być znaczna. Paradygmatem wyznaczającym obecnie postępowanie w nadciśnieniu tętniczym jest wcześniejsza ocena

globalnego ryzyka powikłań miażdżycowych. Im więcej czynników ryzyka współwystępuje, a więc im większe jest globalne ryzyko, tym terapia nadciśnienia powinna być rozpoczynana wcześniej. Jeśli więc CRP, anty-HSP60 czy inny z omawianych powyżej markerów zapalenia/infekcji jest niezależnym czynnikiem ryzyka, to do pełnej oceny pacjenta z nadciśnieniem tętniczym, należałoby oznaczyć jego poziom i uwzględnić go w ocenie globalnego ryzyka przed decyzją o sposobie postępowania z chorym.

Białko C-reaktywne – marker przewlekłego zapalenia

Zapalenie jest odpowiedzią organizmu na uraz lub infekcję. Jednym z istotnych ogólnoustrojowych elementów reakcji zapalnej jest produkcja przez hepatocyty tzw. białek ostrej fazy. Sygnałem do ich produkcji jest uwalnianie cytokin zapalnych, głównie IL-6. Białko C-reaktywne (CRP) odkryte w 1930r jest jednym z najlepiej poznanych białek ostrej fazy, od dawna wykorzystywanym do wykrywania i monitorowania chorób zapalnych. Podczas choroby zapalnej poziom CRP wzrasta wielokrotnie, nawet ponad 1000 razy powyżej poziomu wyjściowego. Białko to pełni liczne role w niespecyficznej odpowiedzi immunologicznej organizmu: wiąże się z fosfocholiną obcych patogenów oraz uszkodzonych komórek ułatwiając ich rozpoznawanie i eliminację, potrafi aktywować komplement oraz wiązać się z komórkami fagocytarnymi, ponadto pełni rolę pro-zapalną wpływając na produkcję innych mediatorów zapalenia.

Wbrew temu co sugeruje nazwa białka ostrej fazy są produkowane tak podczas ostrych jak i przewlekłych procesów zapalnych. Jeszcze stosunkowo niedawno uważano, że CRP jest niewykrywalne w surowicy (w stanie zdrowia) lub jest obecne i to w wysokich stężeniach (w ostrej fazie stanu zapalnego). Wprowadzone w ostatnich latach do oznaczania poziomu CRP tak zwane testy ultraczułe pozwalają oznaczać niewielkie stężenia CRP (od

ok. 0.1 mg/l, tzw. hs-CRP) obecne w surowicy krwi u osób zdrowych. Dzięki temu stwierdzono, że osoby z poziomem CRP uważanym za klinicznie nieistotny (tj. poniżej 10 mg/L) mogą mieć w rzeczywistości bardzo różne stężenie CRP - w zakresie od 0.01 do 10 mg/L. Odzwierciedla to najprawdopodobniej różny stopień nasilenia przewlekłych subklinicznych procesów zapalnych, jakie toczą się w każdym organizmie. Tak więc uważa się, że nawet nieznacznie podwyższony poziom CRP, o kilka mg/L, może być markerem występowania w organizmie przewlekłego procesu zapalnego o niewielkim nasileniu. Przyczyny odpowiedzialne za wywołanie i podtrzymywanie przewlekłego zapalenia mogą być różnorodne, od zapalenia przyzębia po reakcje autoimmunologiczne. Jedną z teorii upatruje przyczynę w przewlekłej infekcji bakteryjnej lub wirusowej spowodowanej przez *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, czy wirusem CMV (16;66;77).

Efektom zainteresowania kardiologów procesami zapalno-immunologicznymi były liczne prace badawcze, które wykazały, że oznaczanie poziomu białka CRP w surowicy krwi może być wykorzystywane do określania odległego ryzyka rozwoju miażdżycy i występowania powikłań miażdżycowych takich jak chromanie przestankowe, zawał serca, dusznica niestabilna czy udar mózgu. Z kolei badania ukierunkowane na patogenetyczne znaczenie CRP w rozwoju miażdżycy wykazały znaczne nagromadzenie CRP w makrofagach w blaszkach miażdżycowych gdzie wpływa ono na zwiększenie produkcji cytokin zapalnych oraz czynnika tkankowego.

Pierwszym dużym badaniem wykazującym prognostyczną wartość CRP było badanie MRFIT (Multiple Risk Factor Intervention Trial) (57). Kolejne duże badania autorstwa P. Ridker'a i wsp. potwierdziły wyniki MRFIT. Na bazie prospektywnego badania obejmującego ponad 1000 osób (Physicians' Health Study) wykazano, że nawet w populacji osób zdrowych nieznacznie podwyższony poziom CRP jest czynnikiem ryzyka rozwoju powikłań miażdżycy, takich jak zawał serca, udar mózgu i chromanie przestankowe (100;101). W badaniu tym wykazano, że podwyższenie

poziomu CRP o zaledwie 1.5mg/l (0.55 vs. 2.1mg/l) zwiększa ryzyko udaru mózgu dwukrotnie a zawału serca trzykrotnie w przeciągu 8 lat obserwacji. W badaniu WHS (Women's Health Study) kobiety z poziomem CRP mieszczącym się w najwyższym kwartylu miały 7-krotnie większe ryzyko wystąpienia zawału serca lub udaru mózgu w czasie 3-letniej obserwacji (99). Podobne rezultaty przyniosła, opublikowana w 1998 r, meta-analiza wszystkich dostępnych prospektywnych badań wykazując, że minimalne różnice w poziomie białka C-reaktywnego wiążą się z wyraźnym wzrostem ryzyka wystąpienia chorób układu sercowo-naczyniowego (16). Wyniki powyższe potwierdziły także kolejne wieloośrodkowe prospektywne badania: MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) i Helsinki Ageing Study (55;130). Również badania obejmujące pacjentów z objawową ch.n.s. wykazują, że znaczny odsetek chorych z dusznicą bolesną, zwłaszcza niestabilną, ma podwyższony poziom białka C-reaktywnego (CRP) i że jest to fakt obciążający rokowanie oraz usposabiający do powtórnych epizodów niestabilności wieńcowej (4;72;155).

Przewlekły stan zapalny, o bardzo niewielkim nasileniu, klinicznie bywa nieuchwytny, jednak ciągła stymulacja zapalna, nieznacznie podwyższony poziom cytokin i białek ostrej fazy, ze względu na wieloletni czas trwania, może owocować szybszą progresją miażdżycy. P. Ridker i P. Libby utrzymują, że prognostyczna wartość CRP przekracza nawet wartość prognostyczną poziomu cholesterolu całkowitego czy stosunku cholesterolu całkowitego do frakcji HDL (67;104).

Infekcja Chlamydia pneumoniae

Chlamydia pneumoniae (Ch.p.) jest bakterią gram ujemną, rozmnażającą się na podobieństwo wirusów wewnątrz komórek gospodarza. Infekcje bakteriami z rodziny Chlamydiae mają tendencję do przechodzenia w postać przewlekłą i nawracającą (138). Zainteresowanie kardiologów tą

bakterią rozpoczęło się od opublikowania w 1988 przez P. Saikku i wsp. wyników badania serologicznego wskazującego na częstsze występowanie przeciwciał IgG skierowanych przeciwko *Chlamydia pneumoniae* u osób z chorobą niedokrwienną serca (112). Wyniki licznych prac badawczych opublikowanych później pozwalają przypuszczać, że bakteria ta ma udział w procesach aterogenezy oraz odgrywa sprawczą rolę w patogenezie chorób o podłożu miażdżycowym.

1. Działanie miejscowe w ścianie naczyń.

Bakterie *Chlamydia pneumoniae* dostają się do organizmu drogą kropelkową. Poprzez zainfekowane makrofagi płucne bakteria ta może rozprzestrzeniać się w całym organizmie – infekując układ naczyniowy. Liczne badania wykazały obecność Ch.p. w zmienionych miażdżycowo naczyniach (84). Ch.p. posiada zdolność infekowania wszystkich komórek wchodzących w skład ściany naczyniowej i biorących udział w procesach miażdżycowych: komórek śródbłonna i mięśni gładkich naczyń oraz fibroblastów i makrofagów (35;36). Zainfekowanie komórek śródbłonna prowadzi do zwiększonej ekspresji na ich powierzchni molekuł adhezyjnych: ICAM-I, VCAM-I i selektyny E. Zwiększona ekspresja tych molekuł wiąże się z nasileniem przylegania leukocytów i ich wzmożoną rekrutacją do tworzącego się ogniska zapalnego (53;58). Jest to pierwszy etap powstawania nowej blaszki miażdżycowej. Zainfekowane komórki śródbłonna tracą swoje ochronne, antykoagulacyjne właściwości, ponadto zaczynają produkować w większej ilości czynnik tkankowy, oraz cytokiny zapalne, mitogenne i chemotaktyczne: $TNF\alpha$, IL-1, IL-8 (19;32). Zmniejszeniu natomiast ulega produkcja tlenku azotu, istotnego czynnika o działaniu antyadhezyjnym i antymitotycznym (71). W efekcie obserwuje się wzmożoną proliferację komórek mięśni gładkich naczyń (VSMC).

2. Działanie ogólnoustrojowe

Przewlekła lub nawracająca infekcja wywołana przez *Chlamydia pneumoniae*, nawet bezpośrednio nie dotycząca układu naczyniowego może wywoływać zmiany ogólnoustrojowe odbijające się na procesach zachodzących w ścianie naczynia. Uważa się że odpowiedzialne za to mogą być indukcja uogólnionego przewlekłego odczynu zapalnego oraz wywołanie reakcji autoimmunologicznej skierowanej przeciw naczyniom tętnicznym.

Systemowy proces zapalny manifestuje się podwyższonym poziomem białek ostrej fazy takich jak fibrynogen, białko C-reaktywne czy SAA, podwyższonym poziomem pro-zapalnych cytokin: IL-1, IL-6, TNF α , oraz zwiększoną ilością rozpuszczalnych molekuł adhezyjnych w surowicy – ICAM-1, VCAM-1, selektyny E.

Chlamydia pneumoniae a choroba niedokrwienna serca

Znaczenie Ch.p w ch.n.s. może wynikać nie tylko z opisanego powyżej wpływu na progresję zmian miażdżycowych lecz może być związane z samą istotą ostrych incydentów wieńcowych: destabilizacją i pęknięciem blaszki miażdżycowej wraz z utworzeniem zakrzepu okcludującego naczynie wieńcowe (64) O stabilności blaszki decyduje nasilenie procesów zapalnych, (głównie aktywność makrofagów). Do pobudzenia procesów zapalnych w obrębie blaszki może dojść zarówno na drodze miejscowego zakażenia jak i w następstwie reakcji na odległą infekcję wywołującą ogólnoustrojowy odczyn zapalny.

Przekonanie o sprawczej roli infekcji *Chlamydia pneumoniae* opiera się nie tylko na wynikach badań z zakresu nauk podstawowych omówionych

powyżej, ale także na wnioskach z dużych badań seroepidemiologicznych i rezultatach programów interwencyjnych z zastosowaniem antybiotyków.

Począwszy od badania P. Saikku w wielu innych pracach, zebranych w artykule przeglądowym J. Danesch, wykazano korelacje pomiędzy poziomem IgG i/lub IgA anty-Chlamydia pneumoniae, a obecnością choroby wieńcowej (17;113). W większości prac związek pomiędzy dodatnimi mianami przeciwciał przeciwko Chlamydia pneumoniae, a incydentami wieńcowymi określony ilorazem szans zawierał się w przedziale od 1.5 do 2.56. Opublikowano jednak również badania, które takiego związku nie potwierdzały (87;103). W polskim badaniu stwierdzono obecność przeciwciał IgG u ponad 45 % chorych zakwalifikowanych do przezskórnej koronaroplastyki i u 22 % z grupy kontrolnej ($p < 0.05$) (96).

Pośrednich dowodów na sprawczą rolę bakterii w patogenezie miażdżycy i ostrych incydentów wieńcowych dostarczają prospektywne badania z użyciem antybiotyków w prewencji wtórnej choroby wieńcowej. W dotychczas zakończonych badaniach (m.in. ROXIS, ACADEMIC, STAMINA) otrzymano zachęcające wyniki wyrażające się zmniejszeniem liczby zdarzeń sercowych, oraz obniżeniem poziomu markerów zapalnych (2;40;41;128).

Chlamydia pneumoniae a udar mózgu

Najczęstszą przyczyną niedokrwiennego udaru mózgu jest zamknięcie tętnicy przez zakrzep formujący się na pękniętej blaszce miażdżycowej. Ponieważ etiopatogeneza tego procesu jest podobna jak w naczyniach wieńcowych, wydaje się prawdopodobne, że Chlamydia pneumoniae może w tych schorzeniach odgrywać podobną rolę. W licznych pracach wykazano obecność Chlamydia pneumoniae w obrębie tętnic mózgowych (136) oraz blaszek miażdżycowych tętnic szyjnych (37;48). Stwierdzono także podwyższone wartości przeciwciał przeciwko Chlamydia pneumoniae u

chorych ze zmianami niedokrwiennymi w obrębie CNS (13;23;143). Ostatnie doniesienia z prospektywnych badań wykazujące wzrost ryzyka udaru u osób z wysokim mianem przeciwciał anti-Chlamydia pneumoniae (względne ryzyko = 8.58), skłaniają do rozważenia Ch.p. jako nowego czynnika ryzyka udaru mózgu (26).

Rola białek szoku cieplnego w patogenezie chorób o podłożu miażdżycowym

Jednym z postulowanych mechanizmów pro-miażdżycowego wpływu infekcji *Chlamydia pneumoniae* jest wywoływanie reakcji autoimmunologicznej poprzez indukcję produkcji immuoglobulin skierowanych przeciw białkom szoku cieplnego. Białka szoku cieplnego (HSP – heat shock proteins) stanowią rodzinę białek o bardzo homologicznej sekwencji aminokwasów, ich struktura niewiele się różni pomiędzy gatunkami. Dlatego też przeciwciała i limfocyty T skierowane przeciw HSP65/HSP60 *Chlamydia pneumoniae* mogą reagować krzyżowo z HSP60 człowieka. Według badaczy z zespołu G. Wick'a inicjuje to pierwszy etap aterogenezy (82). Fakt, że reakcja immunologiczna skierowana przeciwko naczyniom tętnicznym powoduje gwałtowne przyspieszenie rozwoju miażdżycy znany jest od dawna – proces ten obserwuje się w tętnicach przeszczepionego serca (139).

Fizjologiczna rola HSP polega między innymi na ochronie struktury białek komórkowych w sytuacjach grożących ich denaturacją – a więc w przypadkach podwyższonej temperatury. Zwiększoną ekspresję HSP obserwuje się także gdy komórka narażona jest na działanie innych bodźców stresowych, takich jak: wolne rodniki, infekcja, toksyny (papierosy) czy stres mechaniczny (siły ścinające, nadciśnienie) lub cytokin - TNF α . Zwiększona ekspresja HSP przez te czynniki, w świetle teorii autoimmunologicznej, tłumaczy ich proaterogenne działanie. Bezpośrednim następstwem immunizacji i wytworzenia przeciwciał anti-HSP jest cytotoksyczny wpływ na śródbłonek – w następstwie humoralnej i komórkowej reakcji autoimmunologicznej skierowanej przeciw tym komórkom. Następnie dochodzi do wzmożonej rekrutacji limfocytów i makrofagów infiltrujących ścianę naczynia – zjawiska obserwowanego od pierwszych etapów powstawania blaszki miażdżycowej. Koncepcja ta znajduje poparcie w

wynikach badań eksperymentalnych na zwierzętach. Immunizacja zwierząt białkami szoku cieplnego pozyskanymi z bakterii powoduje rozwój zmian miażdżycowych (44;81;147).

W kilku badaniach przekrojowych oraz w badaniach prospektywnych udowodniono związek pomiędzy nasileniem miażdżycy u ludzi, w tętnicach szyjnych, a także w tętnicach wieńcowych, a mianem przeciwciał anti-HSP60 (ludzkie HSP) (54;149;159). Q. Xu i wsp. w pracy obejmującej 750 osób poddanych 5-letniej obserwacji wykazali korelację miana przeciwciał anti-HSP65, z progresją miażdżycy w tętnicach szyjnych (146). Ci sami autorzy w przekrojowym badaniu populacyjnym wykazali zależność pomiędzy nasileniem miażdżycy tętnic szyjnych a mianem przeciwciał anti-HSP65 (150). Podobne wyniki przyniosło duże prospektywne badanie - Bruneck Study (54). Wyniki tego badania wskazują że markery zapalne, w tym przeciwciała anti-HSP60/HSP65, stanowią niezależne czynniki ryzyka miażdżycy tętnic szyjnych. J. Zhu i wsp. w badaniu oceniającym związek pomiędzy nasileniem zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych a mianem przeciwciał anti-HSP60 wykazali istotnie częstsze występowanie tych przeciwciał w grupie z chorobą trójnaczyńową (85% osób) w stosunku do grupy osób bez choroby wieńcowej (65% osób) (159).

Infekcja CMV w patogenezie chorób o podłożu miażdżycowych

Znaczenie infekcji wirusem cytomegalii (CMV) w rozwoju miażdżycy pozostaje zagadnieniem kontrowersyjnym pomimo licznych badań wskazujących na powiązania pomiędzy infekcją CMV a zaawansowaniem zmian miażdżycowych i/lub obecnością chorób o podłożu miażdżycowym.

W wielu badaniach stwierdzono obecność DNA wirusa cytomegalii w komórkach biorących udział w procesach miażdżycowych: komórkach śródbłonna, VSMC, fibroblastach a także makrofagach (46;78). W kilku przekrojowych oraz prospektywnych badaniach wykazano korelację pomiędzy mianem przeciwciał anti-CMV a obecnością ch.n.s. (1;126); nasileniem

zmian miażdżycowych w tętnicach szyjnych (86) oraz zwiększoną umieralnością u pacjentów z ch.n.s. (6;85).

Postulowane mechanizmy poprzez które infekcja CMV może wywierać działanie aterogenne są podobne do opisanych w części poświęconej infekcji Ch.p. Obecność CMV po pierwotnym zainfekowaniu może utrzymywać się w organizmie przez całe życie. Wskazuje się na możliwość układowego działania indukującego subkliniczny przewlekły odczyn zapalny. Obserwowano korelację poziomu przeciwciał anti-CMV z poziomem CRP (49). Możliwe jest także działanie miejscowe: stymulacja wydzielania proaterogennych i promitogennych cytokin, uszkodzenie śródbłonna, indukcja ekspresji molekuł adhezyjnych ICAM-1, VCAM-1 czy destabilizacja blaszek miażdżycowych. Zwracają uwagę zwłaszcza ostatnie doniesienia sugerujące że infekcja CMV działa proaterogennie tylko u części osób – u tych, u których dochodzi do indukcji odczynu zapalnego wyrażonego podwyższonym poziomem IL-6 lub CRP (6;85). Na drodze tych mechanizmów infekcja CMV u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym może prowadzić do podwyższenia poziomu markerów zapalenia oraz usposabiać do szybszego/częstszego występowania zmian lub powikłań narządowych.

Fibrynogen – jako białko ostrej fazy i czynnik ryzyka miażdżycy

Fibrynogen jest glikoproteiną produkowaną w wątrobie w odpowiedzi na stymulację poprzez liczne cytokiny. Do podstawowych funkcji fibrynogenu należy udział w procesie hemostazy oraz mediowanie adhezji i agregacji płytek. Jest zaliczany do białek ostrej fazy – w stanie ogólnoustrojowej reakcji zapalnej jego poziom wzrasta kilkakrotnie. Zainteresowanie fibrynogenem jako nowym czynnikiem ryzyka w latach 80' wynikało ze świadomości, że procesy hemostatyczne mogą odgrywać ważną rolę w patogenezie miażdżycy i chorób układu naczyniowego. Obecnie podkreśla się znaczenie fibrynogenu jako białka ostrej fazy mogącego analogicznie do CRP być markerem tłącego się odczynu zapalnego w organizmie. Uważa się że fibrynogen może

stanowić jedno z ogniw łączących infekcje ze zwiększonym ryzykiem ch.n.s. – obserwowano wyższe poziomy fibrynogenu u osób seropozytywnych w kierunku infekcji Ch.p. (27;135) Pozycja fibrynogenu jako nowego czynnika ryzyka wydaje się być bardziej ugruntowana niż to ma miejsce w przypadku CRP pomimo, że jest on słabszym czynnikiem ryzyka. Meta-analiza licznych prospektywnych prac oceniających fibrynogen jako niezależny czynnik ryzyka, która objęła ponad 4000 osób, wykazała, że różnica w stężeniu tego białka o 0.1 g/L zwiększa ryzyko wystąpienia ch.n.s. o 1.8 razy (16). Fibrynogen jest również niezależnym czynnikiem ryzyka innych chorób o podłożu miażdżycowym: udaru mózgu (142) i chromania przestankowego (73).

Wybrane zmiany i powikłania narządowe w przebiegu nadciśnienia tętniczego

Przerost mięśnia lewej komory serca.

Przerost mięśnia lewej komory serca (LVH) obserwuje się w badaniu echokardiograficznym u ok. 30 - 40% osób z nadciśnieniem tętniczym (56). Mechanizmy odpowiedzialne za LVH nie są do końca poznane. Główną rolę przypisuje się wzrostowi napięcia ścian oraz większemu obciążeniu pracą lewej komory. Jednakże podwyższone ciśnienie tętnicze krwi (CTK) jest odpowiedzialne za przerost tylko częściowo. Korelacja LVH z wartościami CTK jest nieduża, tylko ok. 30% zmienności indeksu masy lewej komory (LVMI) można wytłumaczyć wartościami ciśnienia tętniczego krwi. Dlatego też trwają poszukiwania innych czynników predysponujących do powstania LVH w odpowiedzi na podwyższone ciśnienie krwi. Dotychczas wykazano związek między LVH a wiekiem, płcią, BMI, rasą, spożyciem soli i alkoholu, oraz czynnikami humoralnymi – układem renina-angiotensyna-aldosteron, hormonem wzrostu, insulinemią oraz poziomem katecholamin. Czynniki te,

zwłaszcza humoralne, mają właściwości proliferacyjne lub usposabiające do proliferacji w odpowiedzi na bodźce stymulujące.

Do rozpoznawania przerostu mięśnia lewej komory najczęściej wykorzystuje się badanie echokardiograficzne w projekcji M-mode. Czulość badania wynosi ok. 100%, a swoistość 75%. Górne wartości normy LVMI ustalono na podstawie badań na dużych grupach populacji ogólnej. Większość autorów za patologiczne przyjmuje wartości powyżej dwóch odchyłeń standardowych od średniej. Wartości graniczne dla mężczyzn wynoszą 134g/m^2 , a dla kobiet 110g/m^2 . Ocena przerostu lewej komory ma duże znaczenie kliniczne, gdyż wiąże się ze złym rokowaniem. W badaniach Framingham, po uwzględnieniu innych czynników ryzyka, obserwowano wraz ze wzrostem LVM o 50g/m zwiększenie względnego ryzyka zgonu o 1.7. Zwiększone ryzyko zgonu wynika najpewniej głównie z faktu korelowania LVH z czasem ekspozycji układu krążenia na szkodliwe działanie nadciśnienia oraz częściowo także z upośledzenia funkcji skurczowej, rozkurczowej, przepływu wieńcowego oraz nasilania się wraz ze wzrostem masy lewej komory ilości groźnych zaburzeń rytmu (38;62).

Pogrubienie kompleksu błony środkowej i wewnętrznej ściany tętnic szyjnych

Od kilku lat coraz większą popularność zyskuje badanie grubości kompleksu błony środkowej i wewnętrznej tętnic szyjnych (IMT) przy pomocy ultrasonografii wysokiej rozdzielczości.

Za pogrubienie warstw intima-media odpowiada przebudowa miażdżycowa naczyń oraz przerost nadciśnieniowy ścian naczyń (33). Pomiar IMT jest wykorzystywany w badaniach klinicznych do oceny nasilenia miażdżycy oraz w monitorowaniu efektów leczenia przeciwnadciśnieniowego i hipolipemicznego.

Wykazano że grubość kompleksu intima-media koreluje z obecnością klasycznych czynników ryzyka (7;153). Pogrubienie błony wewnętrznej i środkowej tętnic szyjnych wiąże się z występowaniem miażdżycy w zakresie

innych obszarów: tętnic wieńcowych oraz biodrowych (9). Co więcej, IMT, podobnie jak prędkość fali tętna, odzwierciedla nie tyle aktualny co raczej wieloletni wpływ wszystkich czynników ryzyka na naczynia tętnicze. Dzięki temu pomiar IMT może być bardziej przydatny do oceny ryzyka zagrożenia powikłaniami miażdżycowymi niż np. aktualny poziom cholesterolu. Prospektywne badania oceniające prognostyczną wartość pomiaru IMT wykazały, że osoby z pogrubieniem IMT są kilkakrotnie bardziej zagrożone wystąpieniem udaru mózgu lub zawału serca w czasie kilkuletniej obserwacji (8;153). Ostatnio pojawiły się także pojedyncze doniesienia wykazujące zależność pomiędzy infekcją *Chlamydia pneumoniae* oraz podwyższonym poziomem CRP i fibrynogenu, a pogrubieniem błony wewnętrznej i środkowej tt. szyjnych tak u nadciśnieniowców jak i w populacji ogólnej (7;28;61;76;118). Potwierdzałyby to patogenetyczną rolę czynników zapalno-infekcyjnych w rozwoju miażdżycy w przebiegu nadciśnienia tętniczego.

Sztywność dużych tętnic – prędkość fali tętna.

Wyrzut krwi do aorty wstępującej prowadzi do rozciągnięcia jej ścian i tym samym generuje falę tętna, która rozprzestrzenia się wzdłuż naczyń tętniczych. Prędkość rozprzestrzeniania się fali tętna (PWV) zależy od właściwości fizycznych ściany naczynia. Im naczynie bardziej sztywne tym fala tętna rozprzestrzenia się szybciej. PWV jest klasycznym wskaźnikiem sztywności naczynia (97).

PWV jest uważana za marker uszkodzenia dużych naczyń przez nadciśnienie tętnicze (utrata elementów elastycznych) oraz przez inne czynniki aterogenne (przebudowa miażdżycowa). PWV koreluje z wiekiem, BMI, rasą, wartościami ciśnienia tętniczego, poziomem lipidów, cukrzycą i paleniem papierosów. Niektórzy autorzy sugerują, że PWV lepiej niż klasyczne czynniki ryzyka odzwierciedla zagrożenie powikłaniami miażdżycowymi, gdyż w przeciwieństwie do nich nie podlega chwilowym wahaniom, lecz odzwierciedla sumaryczny efekt czynników ryzyka i czas ich trwania. Zwiększoną PWV obserwuje się u pacjentów z ch.n.s., udarem mózgu i chromaniem przestankowym. Badania nad znaczeniem prognostycznym PWV wykazują, że wartości PWV powyżej 13 m/s stanowią silniejszy czynnik zagrożenia ch.n.s, udarem mózgu i zgonem z przyczyn sercowo–naczyniowych niż poziom cholesterolu, palenie papierosów czy przerost mięśnia sercowego (5;59).

Dysfunkcja rozkurczowa lewej komory

Do zaburzeń funkcji rozkurczowej lewej komory serca dochodzi u znacznego odsetka osób z samoistnym nadciśnieniem tętniczym (ok. 30 %) (124). Obecnie uważa się, że za występowanie zaburzeń funkcji rozkurczowej

odpowiedzialne są głównie zmiany funkcjonalne i strukturalne w miokardium a nie zwiększenie masy serca czy podwyższone obciążenie następcze.

Rozkurcz serca uzależniony jest od procesów wymagających energii, m.in. do wychwytu jonów wapnia z cytoplazmy i zgromadzenia ich, wbrew gradientowi elektrochemicznemu w reticulum sarkoplazmatycznym oraz od biernych, mechanicznych, właściwości ścian serca. Aktywna relaksacja jest bardziej wrażliwa na niedobory energetyczne niż skurcz serca. Ujawnia się to w chorobie niedokrwiennej oraz z powodu zmniejszenia rezerwy wieńcowej – także w nadciśnieniu tętniczym. Bierna relaksacja w większym stopniu zależy od grubości i struktury mięśnia sercowego. Zwiększenie zawartości kolagenu oraz pogrubienie ścian mięśnia sercowego, to zmiany często obserwowane w nadciśnieniu, które poprzez upośledzenie podatności wpływają bezpośrednio na proces biernej relaksacji.

Zaburzenie fizjologicznych procesów okresu rozkurczu koreluje z biochemicznymi markerami niewydolności serca takimi jak przedsionkowy czynnik natriuretyczny (ANP) oraz występowaniem jawnej rozkurczowej niewydolności serca. Ostatnie badania dowodzą, że również bezobjawowe zaburzenia funkcji rozkurczowej – stwierdzane wyłącznie w badaniu echokardiograficznym, posiadają wartość predykcyjną występowania powikłań naczyniowo-sercowych wśród osób z nadciśnieniem (117). Tak więc ocena funkcji rozkurczowej w badaniu echokardiograficznym u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym dostarcza cennych informacji pozwalających na pełniejszy wgląd w zaawansowanie choroby oraz na precyzyjniejszą ocenę globalnego ryzyka powikłań.

Uszkodzenie nerek w przebiegu nadciśnienia tętniczego – znaczenie kreatyninemii.

Rola nerek w patofizjologii nadciśnienia tętniczego jest dobrze udokumentowana (34). W przebiegu nadciśnienia tętniczego dochodzi do uszkodzenia nerek w następstwie m.in. szkliwienia i twardnienia ściany

tętniczek (140) Podwyższony poziom kreatyniny w surowicy krwi obserwowany u osób z nadciśnieniem tętniczym jest markerem o znaczeniu rokowniczym – nie tylko niewydolności nerek ale także incydentów sercowo-naczyniowych (120). Fakt ten znajduje odzwierciedlenie w zaleceniach WHO/ISH odnośnie postępowania w nadciśnieniu tętniczym: nieznacznie podwyższony poziom kreatyniny (106-176 $\mu\text{mol/L}$) jest uznawany jako oznaka uszkodzenia narządowego i uwzględniany w stratyfikacji globalnego ryzyka powikłań w przebiegu nadciśnienia tętniczego (145).

Hipoteza badawcza

U osób z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym, pomimo dobrej kontroli ciśnienia tętniczego jak i klasycznych czynników ryzyka, utrzymuje się zwiększone zagrożenie wystąpieniem chorób o podłożu miażdżycowym. Przyczyną może być występowanie w tej populacji także innych, poza klasycznymi, czynników usposabiających do rozwoju zmian miażdżycowych.

U osób z nadciśnieniem tętniczym częściej niż u zdrowych obecne mogą być markery infekcji i przewlekłego zapalenia. Przewlekłe, subkliniczne zapalenie manifestujące się podwyższonym poziomem CRP i fibrynogenu oraz przebyta infekcja *Chlamydia pneumoniae* lub CMV wyrażająca się obecnością przeciwciał IgG mogą predysponować do występowania zmian i powikłań narządowych u chorych na nadciśnienie.

Wydaje się, że poziom CRP, fibrynogenu oraz anty-HSP60 będzie częściowo zależny od przebycia infekcji *Chlamydia pneumoniae* i/lub CMV, co wskazywało by na istnienie związku przyczynowo-skutkowego pomiędzy infekcją a podwyższonym poziomem proaterogennych markerów zapalnych u chorych z nadciśnieniem tętniczym.

Cele badania

1. Ocena wpływu przewlekłego zapalenia i infekcji na występowanie zmian i powikłań narządowych (TOD) oraz chorób powiązanych (ACC) w przebiegu nadciśnienia tętniczego:
 - a. Oznaczenie poziomów markerów zapalenia (białko C-reaktywne, fibrynogen, przeciwciała anty-HSP60) i infekcji (przeciwciała IgG anty-Chlamydia pneumoniae, IgG anty-CMV) w grupie osób z nadciśnieniem tętniczym oraz w grupie zdrowych.
 - b. Porównanie poziomów markerów zapalenia i infekcji pomiędzy grupą z nadciśnieniem tętniczym z i bez zmian lub powikłań narządowych oraz chorób powiązanych a osobami zdrowymi z prawidłowym ciśnieniem tętniczym krwi.
 - c. Ocena zależności pomiędzy markerami zapalenia i infekcji, a obecnością i nasileniem zmian lub powikłań narządowych.

2. Zbadanie związku pomiędzy infekcją Chlamydia pneumoniae i wirusem cytomegalii (poziom przeciwciał IgG) a markerami przewlekłego zapalenia (białko C-reaktywne, fibrynogen, przeciwciała anty-HSP60).

METODYKA BADAŃ

Charakterystyka badanej grupy

Do badania włączono 119 osób z rozpoznanym pierwotnym nadciśnieniem tętniczym leczonych w Poradni Nadciśnieniowej I Kliniki Kardiologii Collegium Medicum UJ spełniających kryteria włączenia a zgłaszających się kolejno od 01.01.2001.

Nie włączano do badania osób z ostrą chorobą zapalną w ciągu ostatnich 6 tygodni, przewlekłą chorobą zapalną lub infekcyjną, chorobą autoimmunologiczną, nowotworową, zaawansowaną niewydolnością serca, pierwsze 3 miesiące po przebyciu zawału serca lub udarze mózgu, cukrzyca lub inne schorzenia endokrynologiczne.

Grupę kontrolną stanowiło 41 zdrowych ochotników dobranych pod względem płci i wieku. Były to osoby bez wywiadu nadciśnieniowego, z prawidłowym ciśnieniem tętniczym krwi tak w pomiarach tradycyjnych jak i w 24-godzinnym automatycznym monitorowaniu CTK (ABPM), nie leczące się z powodu innych chorób.

Protokół badania został zaakceptowany przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Jagiellońskiego, nr zgody KBET/27/B/99 . Zakwalifikowane osoby zostały dokładnie poinformowane o celu i rodzaju badania oraz wyraziły pisemną zgodę na ich przeprowadzenie.

Dane demograficzne badanej grupy przedstawia tabela 1.

Tabela 1. Podstawowe dane demograficzne badanej grupy.

Parametr	Ogółem	Nadciśnieniowcy	Zdrowi
Liczebność grupy:	160	119	41
Płeć:			
Mężczyźni	80	63	17
Kobiety	80	56	24
Wiek (lata)	54.9 ±11	55.9 ±11	52.0 ±9

Wywiad

Zebrano informacje na temat: wieku, wagi, wzrostu, płci, obecności chorób o podłożu miażdżycowym (choroba niedokrwienna, udar mózgu, chromanie przestankowe), czynników ryzyka miażdżycy (wywiad rodzinny, palenie papierosów), przyjmowanych leków, najwyższych wartości CTK a także długości trwania nadciśnienia.

Pomiary antropometryczne oraz pomiary ciśnienia tętniczego

W celu wykluczenia z grupy kontrolnej osób z nierozpoznanym nadciśnieniem tętniczym wszystkim osobom wstępnie kwalifikowanym do tej grupy wykonano pomiar CTK przy pomocy sfigmomanometru rtęciowego oraz 24-godzinną rejestrację ciśnienia tętniczego krwi (ABPM).

Pomiary ciśnienia tętniczego sfigmomanometrem rtęciowym wykonywano zgodnie z wytycznymi Brytyjskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego (91). Ciśnienie tętnicze mierzono w trakcie pierwszej wizyty na obu ramionach, następnie wszystkich pomiarów dokonywano na ramieniu, na którym stwierdzono wyjściowo wyższe CTK, a w przypadku jednakowej wartości ciśnienia na obu ramionach - na ramieniu niedominującym. Standardowe pomiary ciśnienia wykonywano podczas dwóch oddzielnych wizyt, dwukrotnie w czasie każdej wizyty.

Rejestrację całodobową ciśnienia tętniczego krwi wykonano przy pomocy aparatu SpaceLabs 90207. Na podstawie uzyskanych zapisów obliczano średnie wartości ciśnienia skurczowego i rozkurczowego z całej doby. Pomiary ciśnienia i tętna były wykonywane co 30 minut tak w ciągu dnia jak i w nocy. Położenie mankietu weryfikowano przez porównanie wyników pomiaru automatycznego i poprzedzającego go pomiaru wykonanego sfigmomanometrem rtęciowym (różnica nie przekraczająca 5

mmHg). Metodyka oraz interpretacja wyników całodobowego monitorowania ciśnienia krwi pozostawała w zgodności z oficjalnym stanowiskiem proponowanym przez Grupę Roboczą Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego (132).

Nadciśnienie tętnicze rozpoznawano w oparciu o wywiad lekarski oraz w oparciu o pomiary ciśnienia sfigmomanometrem rtęciowym. Nadciśnienie tętnicze stwierdzano jeżeli średnia tradycyjnych pomiarów ciśnienia z dwóch oddzielnych wizyt przekraczała wartości prawidłowe (dla ciśnienia skurczowego: wartości równe lub wyższe niż 140 mmHg, rozkurczowego równe lub wyższe niż 90 mmHg), lub osoba badana stosowała preparaty hipotensyjne. Nie kwalifikowano do grupy kontrolnej także osób, u których w pomiarze ABPM wartości średnie ciśnienia skurczowego i rozkurczowego z całej doby przekraczały odpowiednio 130 mmHg i 80 mmHg (127).

U każdego uczestnika programu, badanie fizykalne rozszerzono o pomiary antropometryczne. Ciężar ciała i wzrost posłużyły do wyliczenia indeksu masy ciała – BMI (body mass index).

$$\text{BMI} = \text{waga [kg]} / (\text{wzrost [m]})^2$$

Badania laboratoryjne

Badania biochemiczne wykonane zostały w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej Katedry Biochemii Klinicznej i Diagnostyki Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie (kierownik: prof. dr hab. Jerzy Naskalski).

Badania serologiczne (przeciwciała IgG anty-CMV i anty-Ch.p.) zostały wykonane w Zakładzie Wirusologii (kierownik: dr med. Barbara Zawilińska), Instytutu Mikrobiologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie (kierownik prof. dr hab. med. P. Heczko).

Badanie przeciwciał anty-HSP60 wykonano w Zakładzie Biochemii Klinicznej Katedry Biochemii Klinicznej i Diagnostyki Collegium Medicum

Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie (kierownik: prof. dr hab. med. Aldona Dembińska-Kieć).

Wszystkie próbki krwi pobierano rano w godzinach od 7.30 do 8.30, po upływie co najmniej 12 godzin od ostatniego posiłku. Po odwirowaniu uzyskano trzy próbki (po 1 ml) osocza oraz trzy próbki (po 1 ml) surowicy. Probówki zostały zamrożone w temperaturze -30°C do czasu wykonania oznaczeń biochemicznych.

Białko C-reaktywne

Oznaczenie CRP metodą ultraczułą (high sensitivity CRP) wykonano za pomocą nefelometrycznego analizatora biochemicznego Behring Nephelometer Analyzer II przy zastosowaniu kitu Dade Behring N Latex CRP mono. Oznaczenia wykonano po zebraniu całego materiału z zamrożonych w -30°C próbek surowicy. Próbki surowicy po rozmrożeniu rozcieńczano 1:20 - zakres czułości kitu 0.175 – 11 mg/L. W przypadku uzyskania wyniku powyżej górnego zakresu czułości stosowano rozcieńczenie 1:100 – zakres czułości kitu 0.875 – 55 mg/L. Zgodnie z przyjętymi normami wyniki powyżej 10 mg/l jako odzwierciedlające ostry proces zapalny wyeliminowano z dalszej analizy (24;90).

Fibrynogen

Fibrynogen oznaczano przy pomocy zmodyfikowanej metody Klaussa stosując kit Dade Behring Multifibren U oraz automatyczny analizator Boehring Coagulation System. Zakres czułości metody: 0.8 – 12 g/l. Zakres normy: 1.8-3.5g/l

Przeciwciała IgG skierowane przeciwko Chlamydia pneumoniae

Przeciwciała IgG skierowane przeciwko Chlamydia pneumoniae oznaczono metodą immunoenzymatyczną przy pomocy kitu Thermo Labsystems Oy Chlamydia pneumoniae IgG EIA. Oznaczenia wykonano po zebraniu całego materiału z zamrożonych w temperaturze -30° C próbek surowicy. Wynik oznaczenia wyrażony został w EIU (enzyme immunounits). Wartość EIU jest równa odwrotności z miana przeciwciał i została wyliczona ze wzoru:

$$EIU = \frac{A_{sample} - A_{blank}}{A_{cal} - A_{blank}} \times 130$$

A_{sample} – absorbancja próbki badanej

A_{blank} – absorbancja kalibracyjnej próbki 'blank'

A_{cal} – absorbancja kalibracyjnej próbki 'calibrator'

Wartości interpretuje się następująco:

$EIU < 30$ = wynik negatywny

$30 < EIU < 45$ wynik wątpliwy

$EIU > 45$ wynik dodatni

Przeciwciała IgG przeciwko CMV

Przeciwciała IgG skierowane przeciwko CMV oznaczono metodą immunoenzymatyczną przy pomocy kitu Vironostika anti-CMV II. Oznaczenia wykonano po zebraniu całego materiału z zamrożonych w temperaturze -30° C próbek surowicy. Wynik oznaczenia wyrażony został w jednostkach względnych jako stosunek absorbancji próbki badanej do absorbancji kalibracyjnej (cutoff value). Normy pracowniane wynoszą:

1.0– 1.9 = surowica słabo dodatnia

1.9 – 3.4 = surowica dodatnia

> 3.4 = surowica silnie dodatnia.

Przeciwciała przeciwko ludzkiemu białku szoku cieplnego HSP 60

Poziom przeciwciał klasy IgG, IgA oraz IgM skierowanych przeciwko HSP60 oznaczono przy pomocy kitu Anti-Human HSP60 firmy Stressgen metodą immunoenzymatyczną (ELISA). Oznaczenia wykonano po zebraniu całego materiału z zamrożonych w temperaturze -30° C próbek surowicy. Wynik wyrażony został w ng/mL.

Zakres czułości: 7.81-250 ng/ml

Pozostałe oznaczenia biochemiczne:

Kreatynina została oznaczona przy pomocy zautomatyzowanego analizatora Hitachi 917 stosując metodę Jaffe, odczynniki firmy Roche.

Zakres czułości: 8.8-2210 μ mol/l

Zakres normy laboratorium: 45 - 97 μ mol/l.

Oznaczenie lipidów surowicy: cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL, cholesterolu HDL oraz triglicerydów wykonywano za pomocą analizatora biochemicznego Hitachi 911. Cholesterol całkowity oznaczano metodą enzymatyczną CHOD-PAP (52;121), cholesterol HDL oznaczono metodą bezpośrednią po wcześniejszym wytrąceniu cholesterolu LDL i VLDL mieszaniną heparyny i chlorku manganu. Triglicerydy oznaczano metodą

oksydazową GPO-PAP (137). W oparciu o wzór Friedewalda (29) obliczano cholesterol frakcji LDL:

$$\text{LDL} = \frac{\text{Chol.całk.} - \text{HDL} - \text{TG}}{2.19}$$

Stężenie cholesterolu LDL obliczano tylko wówczas, gdy stężenie triglicerydów było mniejsze od 4.6 mmol/l (29).

Zakres norm: cholesterol całkowity < 5.2 mmol/l, HDL >0.9 (mężczyźni), > 1.1 (kobiety) mmol/l, LDL < 3.4 mmol/l, TG < 2,0 mmol/l.

Badanie echokardiograficzne

Celem oceny masy lewej komory oraz funkcji rozkurczowej lewej komory u wszystkich pacjentów zakwalifikowanych do badania wykonano przezklatkowe badanie echokardiograficzne w sposób standardowy przy pomocy aparatu Hewlett – Packard Sonos 2000 z głowicą 2.0/2.5 MHz. Badanie oceniali dwóch niezależnych obserwatorów.

Badanie M-mode

Badanie M-mode wykonano przy użyciu głowicy 2.5 MHz z dostępu przymostkowego pod kontrolą obrazu dwuwymiarowego opierając się na wytycznych Amerykańskiego Towarzystwa Echokardiograficznego – ASE (110). Wszystkie parametry lewej komory obliczono jako średnią z co najmniej trzech kolejnych pomiarów. Wykonywano następujące pomiary:

1. końcowo rozkurczową grubość przegrody międzykomorowej (IVS)
2. końcowo rozkurczową grubość tylnej ściany lewej komory (LVPW)
3. wymiar końcowo-rozkurczowy (LVEDD)
4. wymiar końcowo-skurczowy lewej komory (LVESD).
5. frakcję wyrzutową lewej komory (EF) wg Teicholtza

Do obliczenia masy lewej komory (LVM) zastosowano wzór Devereux skorygowany do pomiarów wykonywanych zgodnie z zaleceniami American Society of Echocardiography.

$$LVM = 0.8 \{ 1.04 [(IVS + LVEDD + PVPW)^3 - (LVEDD)^3] + 0.6g \}$$

(20)

Indeks masy lewej komory (LVMI) obliczono dzieląc masę lewej komory przez powierzchnię ciała.

$$LVMI = LVM / BSA$$

Powierzchnię ciała (BSA) obliczano stosując wzór Dubois:

$$BSA = 0.0001 [71.84 \times \{ \text{waga w kg} \}^{0.425} \times \{ \text{wzrost w cm} \}^{0.725}]$$

(22)

Przerost mięśnia lewej komory rozpoznawano gdy wartości LVMI wynosiły powyżej 2 odchyłeń standardowych od średniej z populacji ogólnej, tj. u mężczyzn $> 134 \text{g/m}^2$, a u kobiet $> 110 \text{g/m}^2$ (43). Osoby z odcinkowymi zaburzeniami kurczliwości ($n=10$) zostały wykluczone z analiz uwzględniających LVMI.

Badania dopplerowskie

Badanie dopplerowskie metodą fali pulsacyjnej (PW) wykonano w projekcji koniuszkowej czterojamowej przy użyciu głowicy 2 MHz ustawiając bramkę Dopplera pulsacyjnego na poziomie końców płatków mitralnych w obrębie jamy lewej komory. Pomiary wykonywano w czasie zatrzymanego maksymalnego wydechu w celu uniknięcia wpływu zmienności oddechowej, przy prędkości zapisu 50 mm/s.

W celu oceny czynności rozkurczowej lewej komory wykonywano następujące pomiary parametrów napływu mitralnego:

1. prędkość fali wczesnego napływu mitralnego (E)

2. prędkość fali napływu mitralnego w czasie skurczu przedsionków (A)
3. stosunek fal E do A
4. czas deceleracji wczesnego napływu mitralnego (DT)
5. czas rozkurczu izowolumetrycznego (IVRT)

Wykonywano także pomiary parametrów napływu żylnego do lewego przedsionka z żył płucnych przy użyciu Dopplera pulsacyjnego. Bramkę umieszczano w świetle prawej górnej żyły płucnej 1 do 2 cm od ujścia. Jeżeli ujście żyły płucnej nie było wyraźnie widoczne lokalizowano napływ żylny stosując tryb Doppler-kolor.

Rejestrowano następujące parametry napływu z żył płucnych:

1. prędkość maksymalna napływu w fazie skurczu komory - S
2. prędkość maksymalna napływu w fazie rozkurczu komory - D
3. prędkość maksymalna napływu wstecznego do żył płucnych w czasie skurczu przedsionka - AR

Do oceny dysfunkcji rozkurczowej posłużono się wytycznymi Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego, za wartości patologiczne przyjmując:

IVRT >100ms (>105 ms dla wieku >50 l.)

E/A <1.0 (<0.5 dla wieku >50 l.)

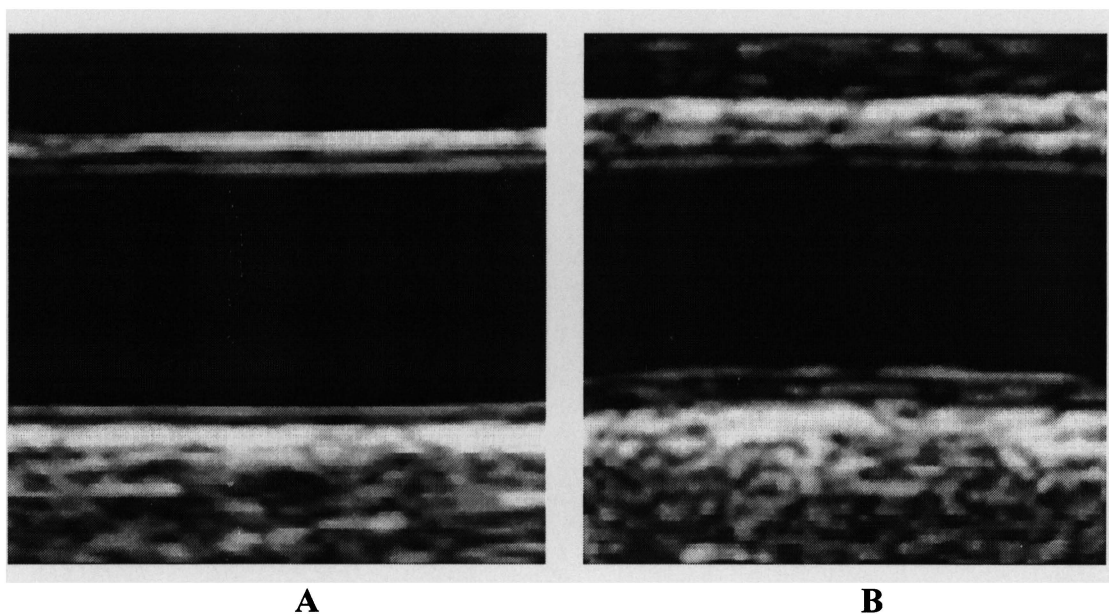
DT >220 ms (> 280 ms dla wieku >50 l.)

S/D > 1.5 (> 2.5 dla wieku >50 l.)

AR > 35 cm/s

Badanie ultrasonograficzne grubości kompleksu błony środkowej i wewnętrznej tętnic szyjnych wspólnych

Oceniano grubość kompleksu błony środkowej i wewnętrznej (IMT) tętnic szyjnych wspólnych. Pomiarów IMT dokonywano w tętnicy szyjnej wspólnej lewej oraz prawej na ścianie bliższej i dalszej. Wynik dla każdego badanego wyrażono jako średnią z 12 kolejnych pomiarów wykonanych na odcinku ok. 2 cm dystalnie od miejsca podziału na tętnicę szyjną wewnętrzną i zewnętrzną. Ponieważ celem pomiaru była ocena rozlanego pogrubienia IMT z pomiarów wykluczano obszary ewidentnych blaszek miażdżycowych widocznych jako lokalne, wyraźnie separujące się od otoczenia, odcinki znacznego pogrubienia IMT. Badanie wykonywano aparatem HP Sonos 2000, głowicą sektorową 7.5 MHz w projekcji B-mode.



Rycina 1. Pomiar IMT - badanie ultrasonograficzne tętnicy szyjnej wspólnej, projekcja B-mode. A - prawidłowa grubość IMT, B – pogrubienie IMT.

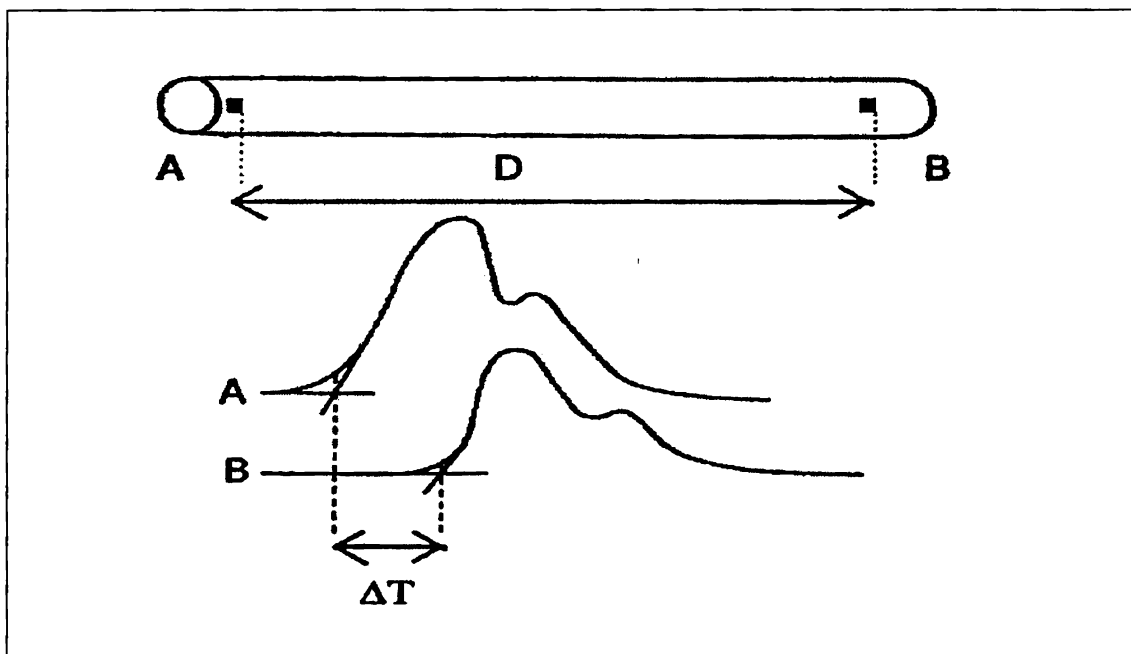
Badanie prędkości fali tętna

Ocenę prędkości fali tętna (PWV) wykonano przy pomocy urządzenia rejestrującego jednocześnie falę tętna w dwóch odległych od siebie punktach. Do pomiarów wykorzystano aparat komputerowy Complior (Complior, Colson, Garges les Genose, France), współpracujący z ciśnienio-wrażliwymi przetwornikami TY 306 Fukuda (Fukuda Denshi, Tokyo, Japan). Przetworniki umieszczano nad prawą tętnicą udową oraz prawą tętnicą szyjną. Drogę przemierzaną przez falę tętna ustalano, zgodnie z przyjętą powszechnie metodyką, mierząc odległość pomiędzy przetwornikami.

Aparat Complior automatycznie oblicza PWV [m/s] dzieląc odległość między przetwornikami (D) przez różnicę czasu pomiędzy pojawieniem się fali tętna na tętnicy szyjnej i tętnicy udowej (ΔT).

$$PWV = \frac{D}{\Delta T} \text{ [m/s]}$$

W każdym przypadku wykonywano co najmniej 15 poprawnych pojedynczych pomiarów celem uzyskania wartości uśrednionej.



Rycina 2. Pomiar PWV. A – pierwszy przetwornik, pomiar nad tętnicą szyjną, B – drugi przetwornik, pomiar nad tętnicą udową. D – odległość pomiędzy przetwornikami, ΔT – różnica czasu pomiędzy początkami fal tętna w pkt. A i B

Analiza statystyczna:

Do statystycznego opracowania wyników wykorzystano pakiet statystyczny Statistica for Windows wersja 6.0 PL (StatSoft Inc., Tulusa, Oklahoma, USA), wykorzystując następujące metody statystyczne:

1. Statystyki opisowe zastosowano do wyznaczenia wartości średnich, odchylenia standardowego, mediany, kwartyli oraz procentowego rozkładu zmiennych.
2. Zmienne o rozkładzie skośnym zostały znormalizowane logarymicznie celem zastosowania do dalszej analizy testów parametrycznych.
3. Test Kołmogorowa-Smirnowa zastosowano do oceny normalności rozkładu ocenianych zmiennych.
4. Test t-Studenta dla zmiennych niepowiązanych do porównania średnich badanych zmiennych pomiędzy dwoma grupami.
5. Test U Manna-Whitneya do porównania średnich badanych zmiennych pomiędzy dwoma grupami w przypadku rozkładu odbiegającego od rozkładu normalnego.
6. Test chi-kwadrat zastosowano do porównania procentowego rozkładu zmiennych jakościowych.
7. Analizę wariancji (ANOVA) stosowano do porównania wartości średnich pomiędzy trzema grupami a następnie testu Scheffe'go do analizy post-hoc.
8. Porównanie zmiennych o rozkładzie odbiegającym normalnego pomiędzy trzema i więcej grupami wykonano testem Kruskala-Wallis.
9. Do oceny powiązań pomiędzy oznaczanymi markerami w surowicy krwi a nasileniem zmian narządowych wykorzystano analizę korelacji Pearsona lub Spearmana w zależności od rozkładu zmiennych.
10. Celem uwzględnienia w analizie zmiennych zaburzających badane relacje wykonano, gdzie to było stosowne, analizę kowariancji metodą ANCOVA lub wieloczynnikową analizę regresję.

WYNIKI

Charakterystyka badanej grupy

Grupa z nadciśnieniem tętniczym została zrekrutowana spośród kolejno zgłaszających się do Poradni Nadciśnieniowej I Kliniki Kardiologii CM UJ. Stanowiło ją 119 osób w wieku od 24 do 79 (średnia 55.9 ± 11), 63 mężczyzn i 56 kobiet, w tym 100 osób z ciężkim oraz 19 osób z umiarkowanym nadciśnieniem. Wszystkie osoby przyjmowały skojarzone leczenie przeciwnadciśnieniowe. U 69 osób rozpoznano zaburzenia lipidowe. Średnia wartość BMI wynosiła 27.6 kg/m^2 , u 60 osób stwierdzono nadwagę (BMI 24-30 kg/m^2) a u 31 osób rozpoznano otyłość (BMI $> 30 \text{ kg/m}^2$). Średni czas trwania nadciśnienia wynosił 12.8 ± 8 lat.

Grupę kontrolną stanowiło 41 zdrowych ochotników, 24 kobiety i 17 mężczyzn, średnia wieku – 52.0 ± 9 lat. Średnie wartości ciśnienia tętniczego z 24-godzinnego automatycznego monitorowania ciśnienia tętniczego krwi wynosiły 118.5 ± 6 mmHg dla ciśnienia skurczowego i 75.2 ± 5 mmHg dla ciśnienia rozkurczowego. Osoby te nie przyjmowały żadnych środków farmakologicznych.

Obie grupy nie różniły się istotnie pod względem wieku i płci. Grupa osób z nadciśnieniem tętniczym charakteryzowała się istotnie większym odsetkiem osób z zaburzeniami lipidowymi, wyższym wskaźnikiem masy ciała i częstszym paleniem papierosów. Porównanie obu grup przedstawiono w tabeli nr 2.

Tabela 2. Porównanie grupy chorych na nadciśnienie tętnicze z grupą kontrolną (zdrowi normotonicy).

PARAMETR		Grupa z nadciśnieniem tętniczym	Grupa kontrolna	p
LICZEBNOŚĆ [n]		119	41	-
WIEK [lata ± SD]		55.9 ± 11	52.0 ± 9	ns
PŁEĆ	63	63	17	ns
	56	56	24	ns
BMI [kg/m ²]		27.6	25.8	0.007
Cholesterol całkowity [mmol/l]		5.5	5.6	ns
Cholesterol LDL [mmol/l]		3.3	3.4	ns
Cholesterol HDL [mmol/l]		1.4	1.4	ns
Triglicerydy [mmol/l]		2.0	1.6	ns
zaburzenia lipidowe [%]		58	61	ns
Palenie papierosów [paczkołata]		9.4	4.7	0.03

W grupie osób z nadciśnieniem oceniono występowanie uszkodzeń narządowych (TOD) oraz powiązanych chorób o podłożu miażdżycowym (ACC). Stwierdzono występowanie:

1. TOD:

- a. przerost mięśnia lewej komory (62 osoby)
- b. dysfunkcja rozkurczowa lewej komory (63 osoby)
- c. pogrubienie IMT >1 mm = górny kwartyl (28 osób)
- d. zwiększona prędkość fali tętna PWV >11.4 m/s = górny kwartyl (30 osób)

2. ACC:

- a. choroba niedokrwienna serca (33 osoby)
- b. przebyty udar mózgu (11 osób)
- c. chromanie przestankowe (2 osoby)

Sumarycznie występowanie TOD lub ACC stwierdzono u 96 osób. W porównaniu do grupy z nadciśnieniem i bez TOD/ACC osoby te były starsze ($p = 0.001$), z większą masą ciała ($p = 0.02$) oraz częściej były leczone statyną ($p = 0.06$). Dokładne zestawienie danych przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3: Porównanie podgrup chorych z nadciśnieniem tętniczym.

PARAMETR		Nadciśnienie tętnicze bez TOD/ACC	Nadciśnienie tętnicze z TOD/ACC	p
LICZEBNOŚĆ [n]		23	96	
WIEK [lata] ±SD		47.7±12	57.8±10	0.001
PŁEĆ	MEŹCZYŻNI [n]	13	50	ns
	KOBIETY [n]	10	46	ns
BMI [kg/m ²] ±SD		25.8±3	28.0±4	0.02
Cholesterol całkowity [mmol/l]		5.7	5.5	ns
Cholesterol LDL [mmol/l]		3.4	3.3	ns
Cholesterol HDL [mmol/l]		1.5	1.3	ns
Triglicerydy [mmol/l]		2.0	2.0	ns
Leczenie statyną [%]		9	30	0.06
Palenie papierosów [paczkolata]		7.2	9.6	ns
Nadciśnienie Umiarkowane [%]		19	16	ns
Nadciśnienie ciężkie [%]		81	84	ns

Poziom markerów zapalenia oraz przeciwciał

U chorych z nadciśnieniem tętniczym obserwowano wyższy poziom CRP i fibrynogenu. Poziom przeciwciał skierowanych przeciwko *Chlamydia pneumoniae* oraz CMV również był wyższy w tej grupie ale różnice te nie osiągnęły znamienności statystycznej. Poziom przeciwciał anti-HSP60 był wyższy w grupie kontrolnej ale różnica ta okazała się nieistotna. W analizie wieloczynnikowej, po uwzględnieniu zmiennych zaburzających (wiek, BMI, palenie papierosów) różnice w poziomach CRP i fibrynogenu nadal zachowały istotność statystyczną. Wyniki te zebrano w tabeli nr 3 (dane surowe) oraz tabeli nr 4 (dane skorygowane).

Tabela 4. Porównanie poziomu markerów zapalenia i infekcji pomiędzy chorymi na nadciśnienie tętnicze a grupą kontrolną (zdrowi normotonicy).

Parametr [jednostka]	Chorzy na nadciśnienie tętnicze N=119	Zdrowi normotonicy N=41	p	
CRP [mg/l]	2.39	1.05	0.001	
średnia geometryczna logCRP [mg/l]	1.5928	0.7623	0.0003	
mediana CRP [mg/l]	1.55	0.76	–	
Fibrynogen [g/l]	2.89	2.56	0.003	
Chlamydia pneumoniae	IgG [EIU]	79	71	ns
	Liczba (odsetek) osób sero-pozytywnych (> 45 EIU)	68(60%)	25(61%)	ns
CMV	IgG	2.74	2.48	ns
	Liczba (odsetek) osób sero-pozytywnych (IgG>1.9)	90(77%)	28(68%)	ns
anty-HSP60 [ng/ml]	17.9	19.2	ns	

Tabela 5. Porównanie poziomu markerów zapalenia i infekcji pomiędzy chorymi na nadciśnienie tętnicze a grupą kontrolną (zdrowi normotonicy). Dane skorygowane po uwzględnieniu w analizie wieloczynnikowej BMI, wieku i palenia papierosów, przyjmowania statyn.

Parametr [jednostka]	Chorzy na nadciśnienie tętnicze N=119	Zdrowi normotonicy N=41	p
CRP [mg/L]	2.33	1.11	0.0003
średnia geometryczna logCRP [mg/L]	1.4866	0.8107	0.0003
Fibrynogen [g/L]	2.87	2.58	0.003
anty-Chlamydia pneumoniae IgG [EIU]	74	76	ns
anty-CMV IgG	2.64	2.58	ns
anty-HSP60 [ng/ml]	17.1	20.1	ns

Wyniki analizy przeprowadzonej po podziale grupy z nadciśnieniem tętniczym na dwie podgrupy – z powikłaniami narządowymi (TOD) i chorobami współistniejącymi (ACC) oraz bez TOD/ACC przedstawiono w tabeli 6. Stwierdzono, że osoby z nadciśnieniem tętniczym powikłanym obecnością TOD lub ACC mają wyższy poziom CRP oraz fibrynogenu tak w stosunku do grupy kontrolnej (zdrowi normotonicy) jak i w stosunku do osób z nadciśnieniem tętniczym bez TOD/ACC. Po skorygowaniu względem wieku, BMI i palenia papierosów, przyjmowania statyn różnice w poziomach CRP i fibrynogenu zachowały istotność statystyczną (tabela 7). Nie stwierdzono natomiast różnic pomiędzy grupą kontrolną (zdrowi normotonicy) a osobami z nadciśnieniem tętniczym bez TOD/ACC (tabela 6).

Poziom przeciwciał skierowanych przeciw: Chlamydia pneumoniae, CMV i białkom szoku cieplnego HSP60 miał tendencję do wyższych wartości w grupie z nadciśnieniem oraz TOD/ACC (tabela 6).

Wyniki analizy przeprowadzonej po podzieleniu materiału na 4 podgrupy: 1. nadciśnienie tętnicze bez TOD/ACC, 2. nadciśnienie tętnicze z TOD ale bez ACC, 3. nadciśnienie tętnicze z ACC, 4. zdrowi normotonicy, przedstawia tabela 8. Stwierdzono występowanie wyższych poziomów CRP i fibrynogenu w stosunku do grupy kontrolnej tak w podgrupie z TOD bez ACC jaki i w podgrupie z ACC oraz brak istotnych różnic między tymi dwoma podgrupami.

Tabela 6. Markery zapalenia i infekcji w grupach chorych na nadciśnienie tętnicze z oraz bez TOD/ACC oraz w grupie kontrolnej (zdrowi normotonicy).

Parametr [jednostka]		Nadciśnienie tętnicze bez TOD/ACC N =23	Nadciśnienie tętnicze z TOD/ACC N=96	Zdrowi normotonicy N=41	p
CRP [mg/l]		1.25	2.66	1.05	0.01
Średnia geometryczna logCRP [mg/l]		0.9521	1.7960	0.7623	0.0001
Fibrynogen [g/l]		2.63	2.95	2.56	0.0001
Chlamydia pneumoniae	IgG [EIU]	65.9	81.7	71.0	ns
	Liczba (odsetek) osób sero-pozytywnych (> 45 EIU)	10(48%)	58(60%)	25(61%)	ns
CMV	IgG [współczynnik]	2.30	2.85	2.38	ns
	Liczba (odsetek) osób sero-pozytywnych (>1.9)	15(71%)	75(79%)	28(68%)	ns
anty-HSP60 [ng/ml]		14.3	18.6	19.2	ns

Tabela 7. Markery zapalenia i infekcji w grupach chorych na nadciśnienie tętnicze z oraz bez TOD/ACC oraz w grupie kontrolnej (zdrowi normotonicy). Dane skorygowane po uwzględnieniu w analizie wieloczynnikowej BMI, wieku i palenia papierosów.

Parametr [jednostka]	Nadciśnienie tętnicze bez TOD/ACC n =23	Nadciśnienie tętnicze z TOD/ACC n=96	Zdrowi normotonicy n=41	p
CRP [mg/l]	1.34	2.59	1.07	0.0001
średnia geometryczna logCRP [mg/l]	1.0102	1.6790	0.7838	0.0001
Fibrynogen [g/l]	2.64	2.91	2.57	0.005
anty-Chlamydia pneumoniae IgG [EIU]	72.0	74.6	72.8	ns
anty-CMV IgG	2.41	2.58	2.55	ns
anty-HSP60 [ng/ml]	14.6	18.7	19.2	ns

Tabela 8. Markery zapalenia i infekcji po podzieleniu materiału na cztery podgrupy.

Parametr	Zdrowi normotonicy N=41	Nadciśnienie bez TOD/ACC N =23	Nadciśnienie z TOD ale bez ACC N=54	Nadciśnienie z ACC N =42	p	
CRP [mg/l]	1.05	1.29	2.44*	2.92 [#]	0.001	
średnia geometryczna logCRP [mg/l]	0.7623	0.9521	1.6806*	1.9515 [#]	<0.001	
Fibrynogen [g/l]	2.56	2.60	2.87*	3.05 [#]	0.002	
Chlamydia pneumoniae	IgG [EIU]	71.0	67.6	78.3	86.1	ns
	osoby seropozytywnych (>45 EIU)	25 (61%)	10 (44%)	25 (61%)	25 (59%)	ns
CMV	IgG	2.48	2.23	2.78	2.93	ns
	osoby seropozytywnych (>1.9 r.)	35 (85%)	15 (65%)	40 (74%)	28 (68%)	ns
anty-HSP60 [ng/mL]	19.2	14.3	21.8	14.9	ns	

Analiza post-hoc: * p - istotne w stosunku do grupy kontrolnej, # p istotne w stosunku do grupy kontrolnej oraz do grupy „nadciśnienie bez TOD/ACC”.

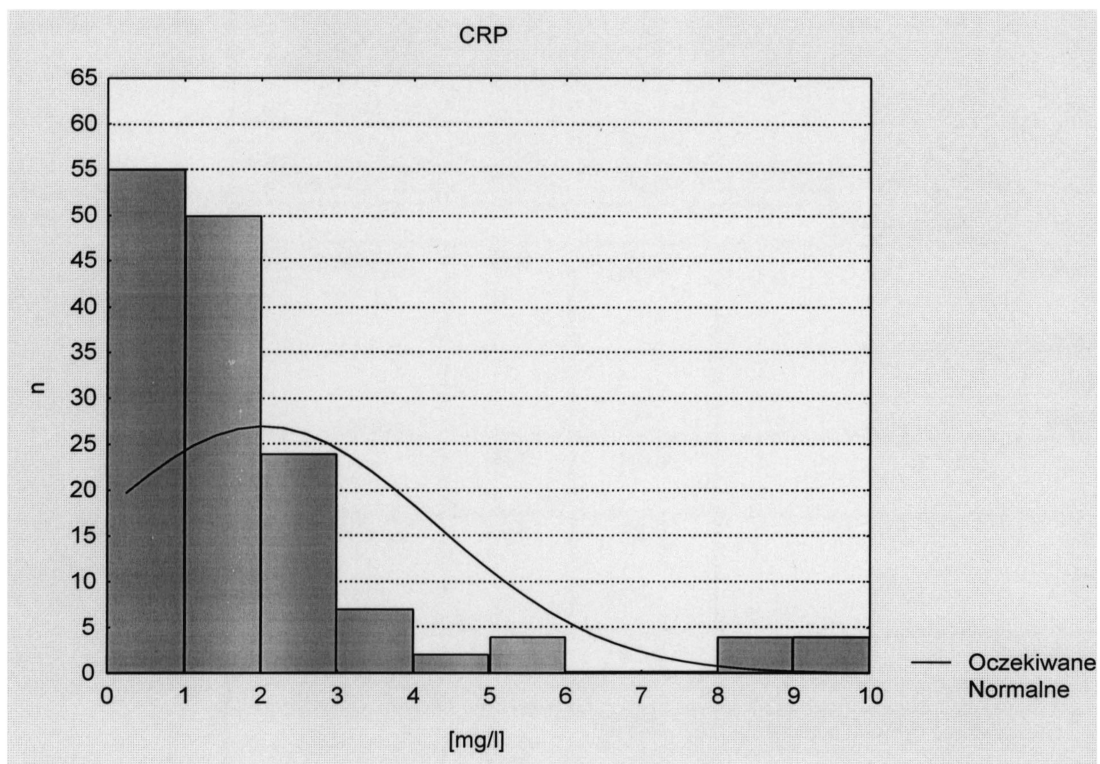
Białko C-reaktywne

Po wykonaniu oznaczeń w całej badanej grupie uzyskano następujące wartości dla poziomu CRP: średnia = 2.03 mg/l, mediana = 1.25 mg/l, SD = 2.25. Ze względu na silnie skośny rozkład zmiennej (poziom CRP – ryc. 3), do obliczeń zastosowano zmienną po transformacji logarytmicznej (ryc. 4) oraz po wykluczeniu wyników powyżej 10 mg/l jako mogących odzwierciedlać ostrą infekcję (n = 7).

Stwierdzono występowanie korelacji poziomu CRP z IMT, poziomem kreatyniny, PWV, IVRT oraz E/A (tab. 10 oraz ryc. 5). Poziom CRP korelował również z typowymi zmiennymi zaburzającymi: BMI, paleniem papierosów (paczkolata) oraz na pograniczu istotności ($p = 0.07$) z wiekiem. W analizie wieloczynnikowej poziom CRP był determinowany wyłącznie przez przeciwciała anti-Ch.p., anti-CMV oraz BMI – wielokrotny $R = 0.38$, $p < 0.0001$.

Po zaszeregowaniu wyników CRP do trzech przedziałów 0-1 mg/l, 1-3 mg/l i 3-10 mg/l, stwierdzono częstsze występowanie poziomu CRP związanego z wyraźnie zwiększonym ryzykiem (tj. >3 mg/l) w grupie osób z nadciśnieniem i TOD/ACC (tab. 9).

Rycina 3. Rozkład CRP w badanej grupie.



Rycina 4. Rozkład CRP po znormalizowaniu logarytmicznym

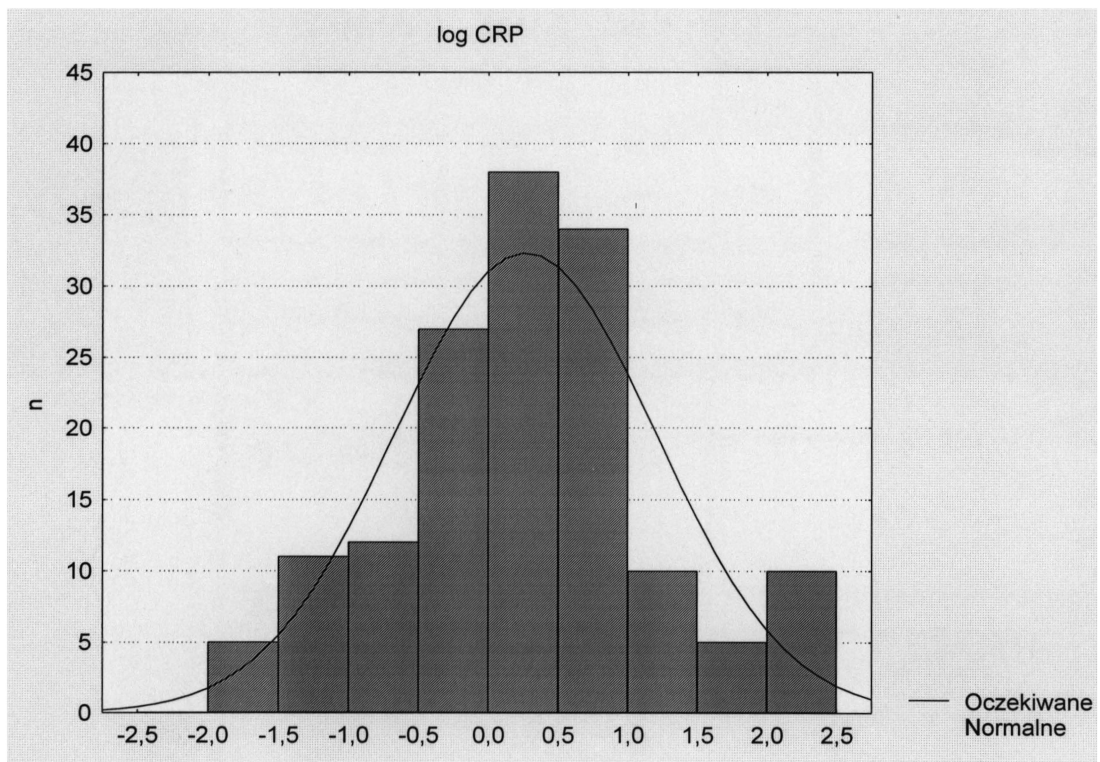


Tabela 9. Rozkład CRP po podzieleniu wartości na trzy kategorie w zależności od przypisanego ryzyka.

Parametr [jednostka]	Zdrowi normotonicy	Nadciśnienie bez TOD/ACC	Nadciśnienie z TOD/ACC	p
CRP = [0-1] mg/l	58%	43%	25%	ns
CRP = [1-3] mg/l	37%	57%	54%	ns
CRP = [3 -10] mg/l	5%	0%	23%	0.02

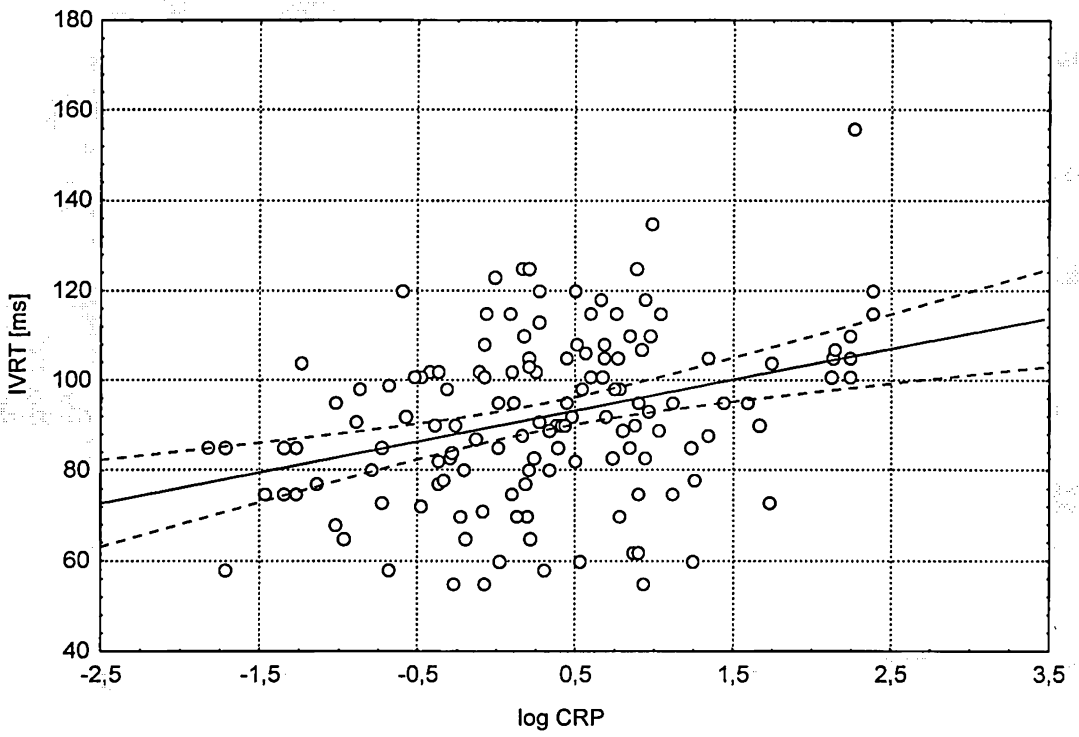
Tabela 10. Korelacje pomiędzy CRP a ocenianymi zmianami narządowymi oraz zmiennymi zaburzającymi.

		IMT	PWV	LVMI	E/A	IVRT	kreaty- nina	wiek	paczko -lata	BMI
logCRP	r	0.21	0.16	0.11	-0.21	0.34	0.16	0.15	0.15	0.22
	p	<u>0.01</u>	<u>0.05</u>	ns	<u>0.01</u>	<u>0.001</u>	<u>0.05</u>	0.07	<u>0.05</u>	<u>0.007</u>

podkreślono $p < 0.05$



Rycina 5. Korelacja pomiędzy CRP a IVRT, $r = 0.34$, $p = 0.001$

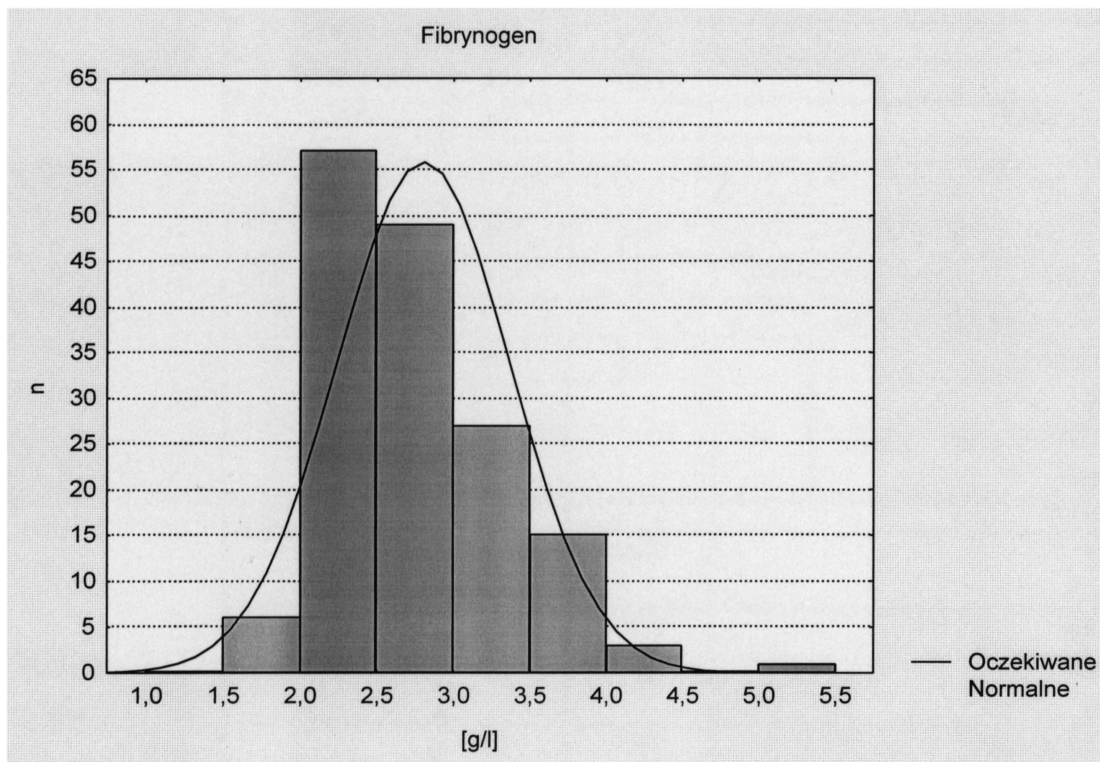


Fibrynogen

Po oznaczeniu poziomu fibrynogenu uzyskano następujące wartości dla całej badanej grupy: średnia = 2.81 g/l, mediana = 2.7 g/l, SD = 0.56. Ze względu na skośny rozkład zmiennej (ryc. 6) do obliczeń parametrycznych zastosowano poziom fibrynogenu po transformacji logarytmicznej (ryc. 7).

Stwierdzono występowanie korelacji poziomu fibrynogenu z IMT (najsilniejsza korelacja) oraz stosunkiem fal E/A. Poziom fibrynogenu korelował również z wiekiem. Pozostałe korelacje przedstawiono w tabeli 11.

Rycina 6. Rozkład poziomu fibrynogenu w badanej grupie.



Rycina 7. Rozkład poziomu fibrynogenu w badanej grupie po przekształceniu logarytmicznym.

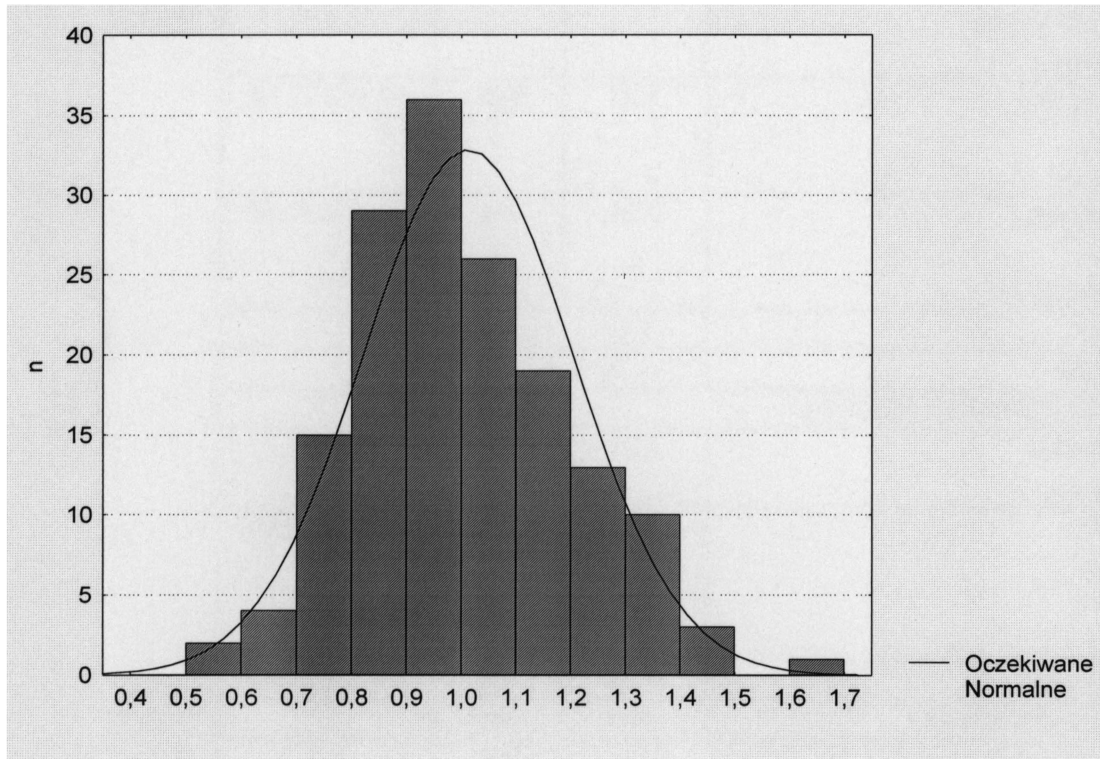
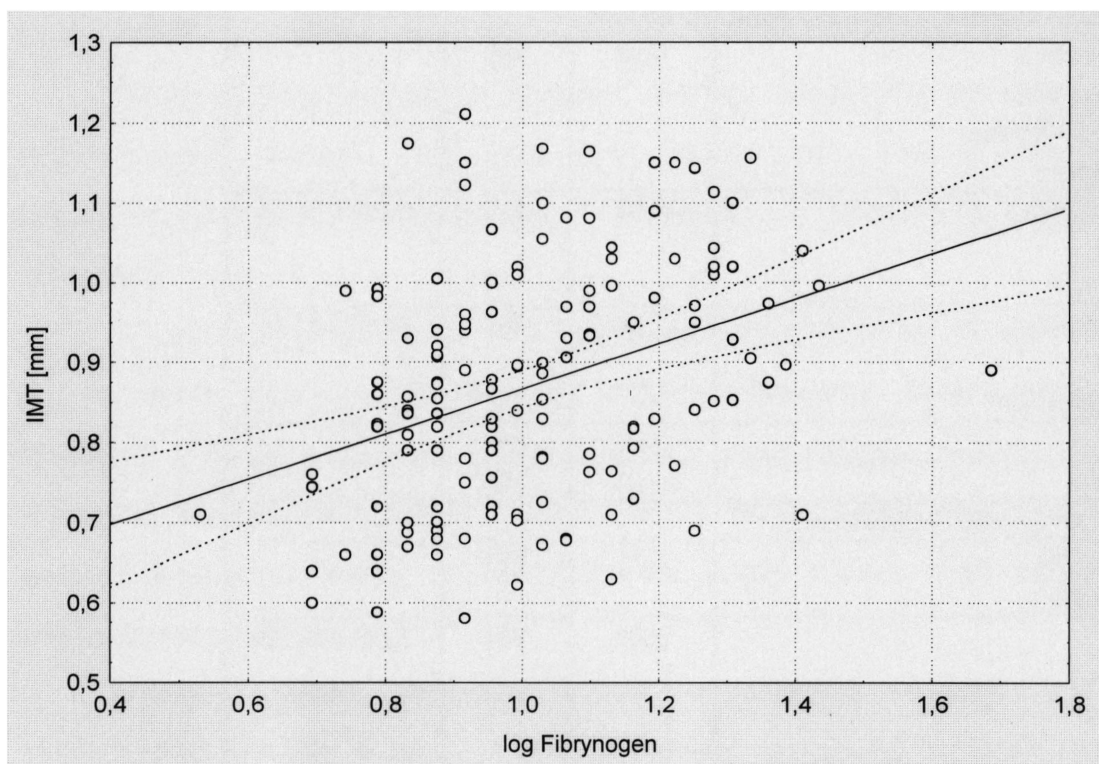


Tabela 11. Korelacje pomiędzy fibrynogenem a ocenianymi zmianami narządowymi oraz potencjalnymi zmiennymi zakłócającymi.

		IMT	PWV	LVMI	E/A	IVR T	Kreaty- nina	wiek	Paczkol- ata	BMI
log Fibrynogen	r	0.36	0.11	0.13	-0.25	0.12	0.10	0.23	0.11	0.11
	p	<u>0.000</u> <u>1</u>	ns	ns	<u>0.003</u>	ns	ns	<u>0.004</u>	ns	ns

Podkreślono istotne p

Rycina 8. Korelacja pomiędzy poziomem fibrynogenu a IMT, $r = 0.36$, $p = 0.0001$



Przeciwciała anty-Chlamydia pneumoniae, anty-CMV oraz anty-HSP60.

Rozkład poziomów badanych przeciwciał (anty-Ch.p., anty-CMV, anty-HSP60) mocno odbiegał od rozkładu normalnego, tak więc w analizie statystycznej zastosowano wyłącznie testy nieparametryczne.

Stwierdzono występowanie istotnych korelacji pomiędzy przeciwciałami anty-Ch.p. a IMT, poziomem kreatyniny oraz wiekiem (tab. 12 oraz ryc. 9).

Wykazano występowanie korelacji pomiędzy poziomem przeciwciał anty-CMV a IMT, PWV, E/A oraz wiekiem (tab. 12 oraz ryc. 10).

Stwierdzono korelację pomiędzy poziomem przeciwciał anty-HSP60 a poziomem kreatyniny, oraz na pograniczu istotności statystycznej z IMT i IVRT (tab. 12).

Osoby seropozytywne w kierunku infekcji Chlamydia pneumoniae miały wyższe wartości IMT oraz były starsze (tab. 13). W analizie wieloczynnikowej po uwzględnieniu wieku różnice w zakresie IMT uległy zniesieniu.

U osób seropozytywnych w kierunku infekcji Chlamydia pneumoniae obserwowano bardziej zaawansowane zmiany narządowe. Istotne różnice wystąpiły pomiędzy grupami w zakresie IMT oraz wieku a tendencje do wyższych wartości w zakresie LVMI, PWV i kreatyninemii (tab. 13). W analizie wieloczynnikowej po uwzględnieniu wieku różnice IMT utraciły istotność statystyczną.

Również osoby seropozytywnych w kierunku infekcji CMV charakteryzowały się bardziej zaawansowanymi zmianami narządowymi. Statystyczną istotność osiągnęły różnice pomiędzy grupami w zakresie PWV, E/A oraz wieku i BMI. Stwierdzono również wyższe wartości IMT, LVMI, IVRT i kreatyninemii – ale różnice te nie osiągnęły istotności statystycznej (tab. 14). W analizie wieloczynnikowej po uwzględnieniu wieku i BMI –

różnice w PWV i E/A pomiędzy grupami uległy zmniejszeniu i w przypadku PWV utraciły istotność.

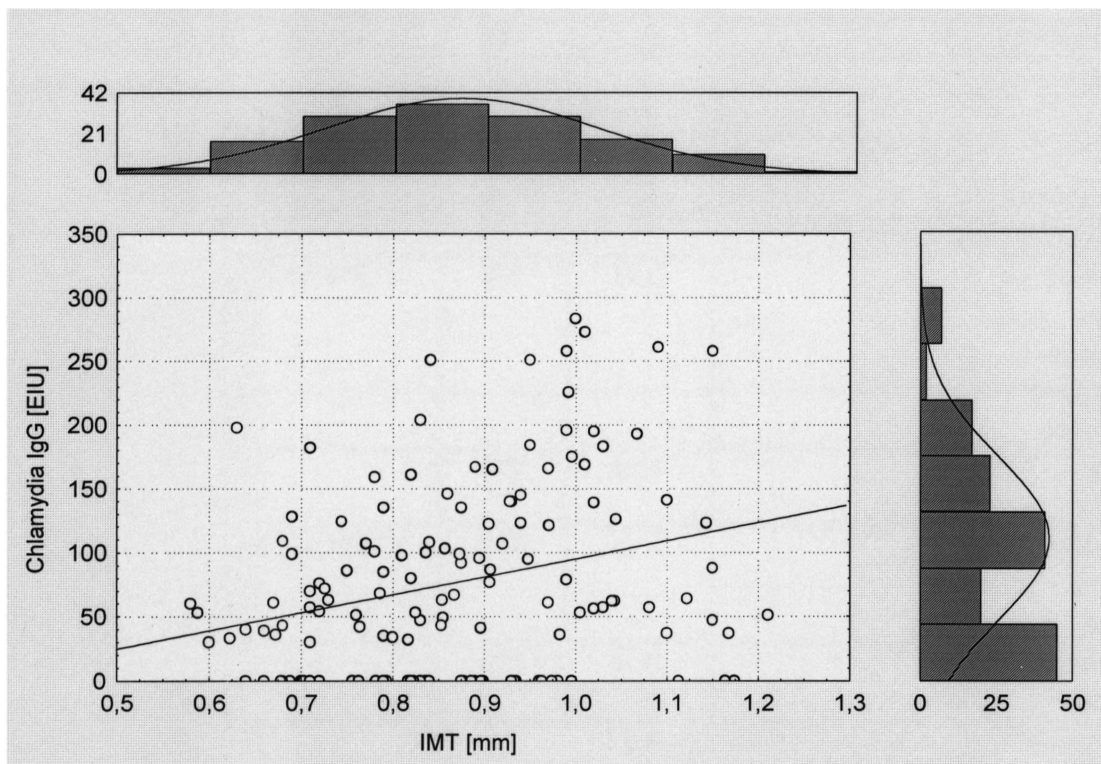
Tabela 12. Korelacje pomiędzy poziomem przeciwciał anti-Chlamydia pneumoniae, anti-CMV oraz anti-HSP60 a ocenianymi zmianami narządowymi i wiekiem.

		IMT	PWV	LVMI	IVRT	E/A	Kreaty- nina	WIEK
anti- Chlamydia pneumoniae IgG	r	0.28	0.11	0.06	-0.01	-0.11	0.22	0.17
	p	<u>0.001</u>	ns	ns	ns	ns	<u>0.006</u>	<u>0.03</u>
anti-CMV IgG	r	0.2	0.28	0.05	0.04	-0.24	0.005	0.27
	p	<u>0.01</u>	<u>0.001</u>	ns	ns	<u>0.003</u>	ns	<u>0.001</u>
anti- HSP60	r	0.14	0.05	0.06	0.15	-0.12	0.19	0.05
	p	0.09	ns	ns	0.07	ns	<u>0.01</u>	ns

r - współczynnik korelacji Spearmana, podkreślono $p < 0.05$

Rycina 9. Wykres rozrzutu przeciwciał anti-Chlamydia pneumoniae a IMT.

Współczynnik korelacji Spearmana $r = 0.28$, $p = 0.001$.



Rycina 10. Wykres rozrzutu przeciwciał anti-CMV a PWV. Współczynnik

korelacji Spearmana $r = 0.28$, $p = 0.001$.

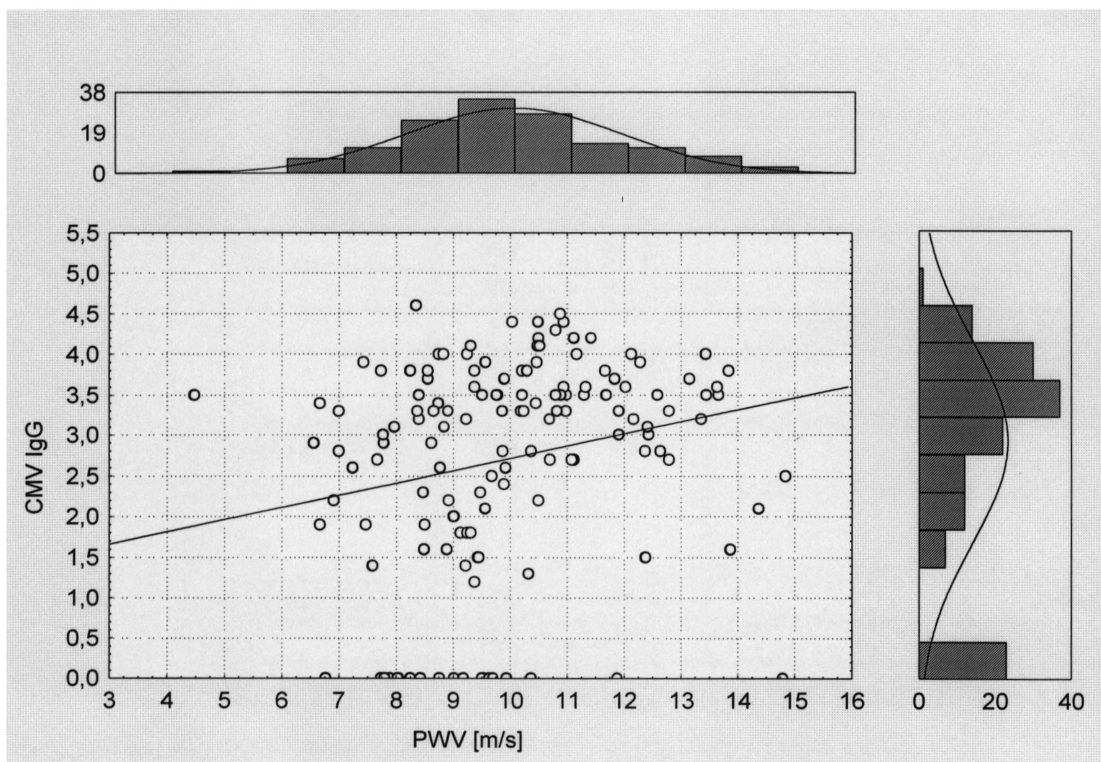


Tabela 13. Porównanie osób seropozytywnych i seronegatywnych w kierunku infekcji *Chlamydia pneumoniae*

Parametr [jednostka]	seronegatywni - IgG anty-Chlamydia pneumoniae EIU < 45	seropozytywni - IgG anty-Chlamydia pneumoniae EIU > 45	P
Wiek [lata]	52.3	56.2	0.03
BMI [kg/m ²]	27.0	27.1	ns
Cholesterol całkow. [mmol/l]	5.6	5.6	ns
Kreatynina [μmol/l]	80.2	85.9	0.07
LVMI [g/m ²]	121.5	129.5	ns
IVRT [ms]	91.2	91.8	ns
E/A [wsp.]	1.0	1.1	ns
IMT [mm]	0.82 (0.85)	0.90 (0.87)	0.006 (0.1)
PWV [m/s]	9.7	10.1	ns
paczkolata	6.8	8.9	ns

W nawiasach podano wartości skorygowane względem wieku i BMI.

Tabela 14. Porównanie osób seropozytywnych i seronegatywnych w kierunku infekcji wirusem cytomegalii

	Seronegatywni IgG anty-CMV < 1.9	Seropozytywni IgG anty-CMV > 1.9	p
LVMI [g/m ²]	118	130	ns
IMT [mm]	0.84	0.88	ns
PWV [m/s]	9.3 (9.5)	10.2 (10.0)	0.01 (ns)
IVRT [ms]	87.7	93.2	ns
E/A [wsp]	1.18 (1.14)	0.98 (1.02)	0.001 (0.01)
Kreatynina [μmol/l]	82.4	84.2	ns
Wiek [lata]	52.2	56.4	0.002
paczkolata	5.0	9.1	ns
BMI [kg/m ²]	25.9	27.5	0.01
Cholesterol całkow. [mmol/l]	5.5	5.6	ns

W nawiasach podano wartości skorygowane względem wieku i BMI

Wpływ infekcji na poziom markerów zapalenia

Stwierdzono występowanie korelacji pomiędzy poziomem przeciwciał anti-Ch.p. a poziomem CRP i poziomem anti-HSP60, natomiast brak korelacji z poziomem fibrynogenu. Również poziom przeciwciał anti-CMV korelował z CRP, natomiast nie był powiązany z poziomem fibrynogenu czy z anti-HSP60 (tab. 15). W analizie wieloczynnikowej jedynymi parametrami determinującymi poziom CRP były infekcja Ch.p, infekcja CMV oraz BMI (wielokrotny $r = 0.38$, $p < 0.0001$).

Tabela 15. Korelacje pomiędzy przeciwciałami anti-Chlamydia pneumoniae i anti-CMV a markerami zapalenia i anti-HSP60.

	CRP	fibrynogen	anti-HSP60
IgG anti-Chlamydia pneumoniae	$r = 0.17$	$r = 0.11$	$r = 0.19$
	$p = 0.04$	ns	$p = 0.02$
IgG anti-CMV	$r = 0.20$	$r = 0.12$	$r = 0.07$
	$p = 0.01$	ns	ns

r - współczynnik korelacji Spearman'a, ns = $p > 0.05$

OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA.

Białko C-reaktywne.

Białko C-reaktywne powoli staje się uznanym czynnikiem ryzyka miażdżycy. Przemawiają za tym liczne prospektywne badania (57;99;100). Jednak dotychczasowa wiedza o wzajemnych relacjach pomiędzy poziomem CRP, a nadciśnieniem tętniczym jest skąpa. W badaniu własnym wykazano występowanie wyższego poziomu białka C-reaktywnego u osób z nadciśnieniem tętniczym 2.39 vs. 1.05 mg/l w grupie kontrolnej. Podobnie w kilku innych opublikowanych badaniach obserwowano wyższy poziom CRP u osób z nadciśnieniem tętniczym oraz korelacje pomiędzy wartościami CTK a poziomem CRP.

Pierwsze pojedyncze doniesienia o występowaniu podwyższonego poziomu CRP u osób z nadciśnieniem tętniczym zostały opublikowane pod koniec lat 90'. Mendall i wsp. badając relacje pomiędzy CRP a tradycyjnymi czynnikami ryzyka obserwowali znamienne wyższe ciśnienie tętnicze wśród osób z CRP powyżej 2.4 mg/dl oraz korelację pomiędzy skurczowym ciśnieniem tętniczym a poziomem CRP w analizie prostej regresji liniowej. Korelacja ta jednak w analizie wieloczynnikowej, po uwzględnieniu wieku, BMI i palenia papierosów okazała się statystycznie nieznamienne (80). Na bazie wielośrodkowego badania MONICA przeprowadzono również ocenę wartości prognostycznej CRP jako czynnika ryzyka choroby niedokrwiennej serca. W ramach tej analizy stwierdzono występowanie wyższych wartości CRP u osób z ciśnieniem tętniczym powyżej 160/95 mmHg. Poziom CRP w tej grupie wynosił 2.07 mg/L, vs. 1.52 mg/L w grupie z prawidłowym CTK. W grupie z nadciśnieniem i CTK poniżej 160/95 mmHg poziom CRP nie różnił się od poziomu u normotoników (1.53 vs 1.52 mg/L) (55). Analizując związek CRP z tradycyjnymi czynnikami ryzyka w badaniu Physicians' Health Study (n=1172) stwierdzono występowanie korelacji pomiędzy ciśnieniem

skurczowym a CRP (współczynnik korelacji $r = 0.19$) oraz ciśnieniem rozkurczowym a CRP (współczynnik korelacji $r = 0.19$). Stwierdzono również występowanie wyższego poziomu CRP u osób z nadciśnieniem w stosunku do normotoników – 1.2 vs 1.5 mg/L (średnie geometryczne) (106).

Podobne wyniki przyniosły kolejne badania. Tataru i wsp. wykazali w badaniu obejmującym ponad 1800 osób korelacje pomiędzy CRP a ciśnieniem tętniczym krwi - $r = 0.109$ w analizie dwuczynnikowej i $r = 0.0845$ w analizie wieloczynnikowej (133). Cook i wsp. oceniając relację pomiędzy CRP a tradycyjnymi czynnikami ryzyka u dzieci również wykazali istnienie korelacji pomiędzy SBP i DBP a CRP, współczynniki korelacji w analizie wieloczynnikowej wynosiły odpowiednio $r = 0.18$ i 0.12 . Po uwzględnieniu w analizie otyłości korelacja obniżyła się do $r = 0.08$ pomiędzy SBP a CRP pozostając jednak nadal statystycznie znamiennej (12).

W ciągu ostatnich lat (2001-2003r.) poza badaniami, w których powiązania pomiędzy CRP a nadciśnieniem obserwowano niejako na marginesie głównego badania, pojawiły się również prace celowo ukierunkowane na ocenę tych zależności. Bautista i wsp. przeprowadzili badanie mające ocenić czy CRP jest niezależnie powiązane z wartościami CTK ($n=300$). W badaniu tym wykazano częstsze występowanie nadciśnienia tętniczego u osób z CRP w górnym kwartylu w porównaniu do pierwszego kwartylu: 59 % vs 35 %. Po uwzględnieniu znanych czynników wpływających na występowanie nadciśnienia wykazano, że podwyższony poziom CRP jest kolejnym niezależnym czynnikiem wpływającym na występowanie nadciśnienia. U osób z CRP w górnym kwartylu obserwowano o 1.56 raza częstsze występowanie nadciśnienia w stosunku do pierwszego kwartylu. (3). Cifkova i wsp. w dużym badaniu populacyjnym ($n = 1274$) wykazali występowanie podwyższonego poziomu CRP u kobiet z nadciśnieniem tętniczym, średnie geometryczne ($\log\text{CRP}$) wynosiły odpowiednio: 1.59 mg/L u normotoników, 1.88 mg/l u nieleczonych osób z nadciśnieniem i 2.04 mg/l u osób przyjmujących leki hipotensyjne. (11). Badaniem obejmującym największą liczbę osób ($> 14\ 000$ kobiet z Women's Health Study) jest

niedawno opublikowana (styczeń 2003) analiza, w której stwierdzono powiązania CRP z kilkoma tradycyjnymi czynnikami ryzyka w tym i z nadciśnieniem tętniczym. Kobiety z prawidłowym CTK miały niższy poziom CRP w stosunku do kobiet z nadciśnieniem tętniczym – 1.14 vs. 2.38 mg/l. Zwraca uwagę fakt, że wartości te są bardzo zbliżone do wartości uzyskanych w badaniu własnym (1.05 vs. 2.39 mg/l) (98).

Wyniki omówionych powyżej badań wskazują na istnienie korelacji liniowej pomiędzy CRP a ciśnieniem tętniczym krwi. Wyższym wartościom CTK towarzyszy występowanie wyższego poziomu CRP. Koresponduje to z wynikami badań które wskazują na występowanie wyższego poziomu CRP w grupach z nadciśnieniem tętniczym. Wyniki badania własnego są w tym względzie zgodne z dotychczas opublikowanymi, cytowanymi powyżej badaniami, które były przeprowadzone w przeciągu ostatnich 3 lat w na populacji europejskiej, amerykańskiej oraz japońskiej. Ponieważ powyższe badania podobnie jak badanie własne miały charakter przekrojowy a nie prospektywny nie jest możliwe wnioskowanie odnośnie związków przyczynowo-skutkowych pomiędzy nadciśnieniem tętniczym a CRP. Nie wiadomo czy podwyższenie poziomu CRP towarzyszy wzrostowi CTK, odzwierciedlając np. większe zaawansowanie procesów miażdżycowych, czy też odwrotnie: podwyższony poziom CRP, na drodze postulowanych mechanizmów, prowadzi do podwyższenia CTK.

Po podzieleniu pacjentów z nadciśnieniem tętniczym na podgrupę z nadciśnieniem powikłanym oraz podgrupę bez uszkodzeń narządowych i chorób powiązanych okazało się, że wyższy poziom CRP występuje jedynie w grupie z powikłaniami i zmianami narządowymi (2.66 mg/l vs. 1.05 mg/l w grupie kontrolnej). Osoby z nadciśnieniem niepowikłanym, bez przerostu mięśnia lewej komory, z niezaburzoną funkcją rozkurczową lewej komory, prawidłową ścianą naczyń, prawidłową prędkością fali tętna oraz prawidłową funkcją nerek miały zbliżony poziom CRP do obserwowanego w grupie kontrolnej (1.25 mg/l vs. 1.05 mg/l). Uwzględnienie w analizie wieloczynnikowej zmiennych zaburzających nie miało większego wpływu na

te wyniki. Można więc przypuszczać, że niski poziom CRP charakteryzuje chorych z nadciśnieniem o niższym ryzyku zgonu i powikłań sercowo-naczyniowych, a wysoki poziom CRP charakteryzuje chorych z nadciśnieniem obarczonych zwiększonym ryzykiem zgonu i powikłań sercowo-naczyniowych. Należy również zauważyć że w niniejszej pracy nie stwierdzono różnic w markerach zapalenia pomiędzy grupą z nadciśnieniem bez TOD/ACC a grupą kontrolną, a także pomiędzy grupą z nadciśnieniem i TOD ale bez ACC w stosunku do grupy z nadciśnieniem i ACC (tab. 8). Stwierdzono natomiast wyższe wartości w stosunku do grupy kontrolnej tak w grupie z nadciśnieniem i TOD ale bez ACC, jak i w grupie z nadciśnieniem i ACC (tab. 8).

Ze względu na charakter badania nie można było wykonać analizy w kierunku prognostycznego znaczenia podwyższonego CRP u osób z nadciśnieniem tętniczym. Jednak obserwowany w tej grupie poziom CRP (mediana = 1.55 mg/l) odpowiada poziomowi CRP, który był powiązany ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia zgonu i powikłań sercowo-naczyniowych w wymienionych wyżej dużych prospektywnych badaniach populacyjnych; np. w badaniu Physicians' Health Study w grupie osób u których doszło do wystąpienia zawału serca mediana CRP wynosiła 1.51 mg/l, a w grupie bez incydentów sercowo-naczyniowych - 1.31 mg/l. Może to sugerować, że i u osób z nadciśnieniem taki poziom CRP odzwierciedla zwiększone ryzyko. Pośrednim dowodem na poprawność takiego rozumowania jest fakt, że w niniejszym badaniu wyższy poziom CRP obserwowano jedynie u osób z nadciśnieniem i powikłaniami oraz/lub uszkodzeniami narządowymi. Wiadomo, że obecność powikłań i uszkodzeń narządowych wiąże się ze znacznie zwiększonym ryzykiem zgonu i wystąpienia dalszych incydentów sercowo-naczyniowych u osób z nadciśnieniem tętniczym.

Zgodnie z najnowszymi zaleceniami AHA dotyczącymi markerów zapalenia, poziom CRP < 1 mg/l należy interpretować jako odpowiadający niskiemu ryzyku, 1 – 3 mg umiarkowanemu, a powyżej 3 mg/l wiąże się z dużym ryzykiem. W badaniu własnym poziom CRP powyżej 3 mg/l

stwierdzono u 23% osób z nadciśnieniem i TOD/ACC, u 5% grupy kontrolnej i u nikogo z grupy z nadciśnieniem bez TOD/ACC (tab. 9). A więc i taka forma analizy uwidacznia współwystępowanie poziomu CRP wskazującego na zwiększone ryzyko ze zwiększonym ryzykiem wynikającym z obecności TOD/ACC.

W pracy własnej wykazano wyższy poziom CRP w podgrupie z TOD oraz korelację pomiędzy poziomem CRP a zaawansowaniem niektórych zmian/uszkodzeń narządowych: pomiędzy CRP a IMT, CRP a poziomem kreatyniny, CRP a IVRT, CRP a E/A oraz pomiędzy CRP a PWV.

Wiadomo z opublikowanych badań, że poziom CRP bywa powiązany z wiekiem, BMI, paleniem papierosów oraz przyjmowaniem statyn. W niniejszym badaniu również stwierdzono istnienie takich korelacji (tab. 10). W analizie wieloczynnikowej, po uwzględnieniu ww. zmiennych zaburzających, korelacje z IMT, PWV, kreatyniną straciły istotność statystyczną. Sugeruje to, że CRP bardziej odzwierciedla zawansowanie tych zmian/uszkodzeń narządowych (wywołanych przez inne czynniki jak papierosy czy otyłość) niż jest niezależnym czynnikiem ryzyka. Dotychczas nie opublikowano badań ukierunkowanych na ocenę zależności pomiędzy CRP a TOD w nadciśnieniu. Jednak badania oceniające związek pomiędzy CRP a subklinicznymi zmianami naczyniowymi wskazują, że CRP może też być niezależnym czynnikiem powiązany z pogrubieniem IMT (47;123;144). Stwierdzono również powiązania pomiędzy poziomem CRP a upośledzeniem funkcji nerek (89;131). Niewykluczone więc, że obserwowane w niniejszym badaniu powiązania pomiędzy CRP a IMT oraz CRP a kreatyniną w analizie korelacji, odzwierciedlają rzeczywiste zależności a utrata istotności statystycznej w analizie wieloczynnikowej jest tylko efektem zbyt niskiej liczebności badanej grupy.

Przyczyny dla których poziom białka C-reaktywnego jest podwyższony u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym pozostaje niewyjaśniony. Niektórzy z autorów omówionych powyżej prac postulują bezpośredni udział CRP w mechanizmach patogenetycznych prowadzących do podwyższenia CTK.

Sugeruje się, że zapalenie może prowadzić do dysfunkcji śródbłonna i w następstwie do zaburzenia zależnej od śródbłonna relaksacji naczyń (122;152). Wyższy poziom CRP u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym może także odzwierciedlać większe zaawansowanie miażdżycy wśród tych osób. Tłumaczyło by to obserwowane korelacje poziomu CRP z IMT oraz z PWV. Wyniki tej pracy jak i cytowanych badań mogą sugerować udział CRP w mechanizmach wpływających na regulację ciśnienia tętniczego. Mogą też wynikać ze współwystępowania licznych metabolicznych czynników ryzyka w ramach zespołu metabolicznego, rozszerzonego o komponentę zapalną. Zwłaszcza ta ostatnia koncepcja wydaje się być dobrze podparta wynikami badań. Wykazano bowiem ostatnio, że poziom CRP wyraźnie koreluje ze składowymi zespołu polimetabolicznego oraz odzwierciedla znaczną część związanego z nim ryzyka (98;151). Niemniej znaczenie CRP w nadciśnieniu tętniczym czy to jako elementu patofizjologii nadciśnienia czy też jako nowego czynnika ryzyka powikłań czy kolejnej komponenty zespołu polimetabolicznego pozostaje niewyjaśnione i wymaga dalszych prospektywnych badań.

Infekcja *Chlamydia pneumoniae* i wirusem cytomegalii.

Rola infekcji w nadciśnieniu tętniczym pozostaje przedmiotem badań od ponad 10 lat. Przeprowadzone dotychczas badania koncentrowały się głównie na zakażeniu *Helicobacter pylori*. Część opublikowanych prac wskazuje na zależność pomiędzy infekcją tą bakterią a podwyższonym CTK (45;141). W świetle aktualnej wiedzy najbardziej „podejrzane” patogeny w wpływające na choroby układu sercowo-naczyniowego to *Chlamydia pneumoniae* i wirus cytomegalii. Wpływ infekcji tymi patogenami na przebieg nadciśnienia tętniczego nie został jeszcze zbadany. Opisana we wstępie rola infekcji Ch.p oraz CMV w rozwoju zmian aterosklerotycznych oraz w destabilizacji blaszek miażdżycowych może prowadzić do wcześniejszego i częstszego występowania powikłań w przebiegu nadciśnienia, zwłaszcza choroby niedokrwiennej i udaru mózgu. Teoretycznie *Chlamydia pneumoniae* i CMV mogą wpływać na przebieg nadciśnienia i występowanie zmian narządowych także w bardziej bezpośredni sposób. Jak wiadomo *Chlamydia pneumoniae* oraz CMV występują *in vivo* w makrofagach i komórkach ścian naczyń tętniczych gdzie wywierają wpływ stymulujący na produkcję cytokin działających proliferacyjnie na komórki mięśni gładkich naczyń (46;105) – co w efekcie może prowadzić do ich przerostu, nadreaktywności i wzrostu oporu obwodowego. W jednym z badań wykazano, że podwyższony poziom interleukiny Ib, cytokiny produkowanej głównie przez pobudzone makrofagi, spotyka się znacznie częściej wśród osób z nadciśnieniem (57 % vs. 19 %) (15). Cytokina ta wpływa m.in. na funkcje endotelium oraz pobudza komórki mięśni gładkich naczyń do proliferacji (68). Cook i wsp. wysunęli hipotezę postulującą, że infekcja naczyń tętniczych *Chlamydia pneumoniae* może prowadzić do włóknienia ścian tętnic i wzrostu ciśnienia tętniczego w mechanizmie zwiększonego oporu obwodowego (14). Duża skłonność do włóknienia tkanek zainfekowanych patogenami z rodziny *Chlamydiae* jest obserwowana w innych chorobach. Jest to najpewniej następstwem

specyficznych właściwości bakterii z rodziny Chlamydiae oraz tendencji do wywoływania przewlekłych procesów zapalnych.

W badaniu własnym nie wykazano różnic w poziomie przeciwciał anti-Chlamydia pneumoniae i anti-CMV pomiędzy grupami, również różnice w liczebności osób seropozytywnych w grupach nie osiągnęły istotności statystycznej. Oceniając wpływ infekcji na występowanie wybranych uszkodzeń narządowych przy pomocy analizy korelacji stwierdzono powiązania pomiędzy poziomem przeciwciał anti-Chlamydia pneumoniae oraz przeciwciał anti-CMV z grubością kompleksu intima-media tętnic szyjnych. Współczynniki korelacji wynosiły odpowiednio $r = 0.28$, $p = 0.001$ dla Ch.p. oraz $r = 0.2$, $p = 0.01$ dla CMV. W analizie wieloczynnikowej, po uwzględnieniu wieku, BMI, palenia papierosów, oraz cholesterolu, korelacja pomiędzy poziomem przeciwciał anti-Ch.p a IMT była nadal istotna statystycznie, natomiast korelacja pomiędzy poziomem przeciwciał anti-CMV a IMT straciła istotność. Poziom przeciwciał korelował z poziomem kreatyniny ($r=0.22$, $p=0.006$). Stwierdzono także korelowanie poziomu przeciwciał anti-CMV z prędkością fali tętna ($r=0.28$, $p=0.001$), oraz parametrem dysfunkcji rozkurczowej lewej komory stosunkiem fal E/A ($r=-0.24$, $p = 0.003$). W analizie wieloczynnikowej, po uwzględnieniu wieku, BMI, palenia papierosów oraz cholesterolu korelacja przeciwciał anti-CMV z PWV i kreatyniną straciła na znaczeniu, a z E/A pozostała istotna. Po podzieleniu grup na osoby seropozytywne i seronegatywne uwidoczniło się różnice: osoby seropozytywne w kierunku Ch.p. były starsze oraz miały wyższe wartości IMT, zaś osoby seropozytywne w kierunku CMV charakteryzowały się większą sztywnością ścian tętnic (wyższe PWV) oraz gorszą funkcją rozkurczową lewej komory (niższy E/A) i również były starsze. W analizie wieloczynnikowej po standaryzacji względem wieku różnice pomiędzy grupami nadal były istotne w zakresie funkcji rozkurczowej (E/A).

Dotychczas opublikowano jedynie pojedyncze badania oceniające rolę infekcji Ch.p w nadciśnieniu tętniczym. Cook i wsp. stwierdzili występowanie

wyższych poziomów przeciwciał anti-Ch.p. u osób z nadciśnieniem, jednak nie obserwowali wpływu seropozytywności na występowanie przerostu mięśnia lewej komory (14). W badaniu tym 43 % osób z nadciśnieniem i 27 % w grupie kontrolnej wykazywało seropozytywność w kierunku infekcji *Chlamydia pneumoniae*. Zwraca uwagę rzadsze występowanie infekcji w tej grupie w stosunku do osób uczestniczących w badaniu własnym. Rozbieżności mogą wynikać z odmiennych populacji lub z niewystarczającej liczebności grup. W kilku opublikowanych badaniach wykazano korelację pomiędzy poziomem przeciwciał anti-*Chlamydia pneumoniae* a IMT w populacji ogólnej (75;114). Ostatnio opublikowano również badanie oceniające wpływ leczenia antybiotykiem makrolidowym, na progresję IMT. Wyniki tej pracy, wskazującej na zahamowanie progresji przebudowy tętnic szyjnych po leczeniu antybiotykami, sugerują związek przyczynowo skutkowy pomiędzy infekcją Ch.p. a pogrubieniem kompleksu intima-media tętnic szyjnych (115). Na szczególną uwagę zasługuje praca Schmidt'a i wsp. przeprowadzona u osób z nadciśnieniem tętniczym (n = 113). Autorzy obserwowali zależność pomiędzy poziomem przeciwciał anti-Ch.p. a grubością kompleksu intima-media tętnic szyjnych. Osoby seropozytywne miały wyższe wartości IMT - 1.0 mm vs 0.92 mm (118). Podobne wyniki przyniosło badanie własne. W grupie osób z nadciśnieniem tętniczym, seropozytywnych w kierunku infekcji Ch.p. stwierdzono wyższe wartości IMT - 0.93 vs. 0.84 mm, (p=0.001). Poziom przeciwciał anti-Ch.p. jak i poziom przeciwciał anti-CMV korelował z wiekiem. Odzwierciedla to najpewniej większą skumulowaną ekspozycję na te patogeny wraz z wiekiem. Zniesienie istotności w korelacjach pomiędzy przeciwciałami anti-CMV a IMT i PWV oraz anti-Ch.p. a kreatyniną w analizie wieloczynnikowej po uwzględnieniu wieku nie koniecznie musi oznaczać, brak związków przyczynowo-skutkowych. Może jedynie wynikać z faktu, że infekcja „aterogennymi” patogenami nabiera na znaczeniu wraz z długością życia będąc jedną z przyczyn częstszego występowania przebudowy naczyń i miażdżycy u osób starszych.

Białka szoku cieplnego

Podwyższone ciśnienie krwi stanowi mechaniczny bodziec stresowy dla śródbłónka – może więc teoretycznie być czynnikiem indukującym wzmożoną ekspresję białek szoku cieplnego na powierzchni komórek śródbłónka. W początkowym okresie zjawisko takie jest korzystne – białka szoku cieplnego stanowią czynnik ochronny zapobiegający uszkodzeniu komórek. Jeżeli sytuacja ta utrzymuje się dłużej, a także gdy istnieją auto-przeciwciała skierowane przeciw białkom szoku cieplnego (anty-HSP60), zwiększona ekspresja HSP60 na skutek podwyższonego CTK stanowi czynnik sprzyjający uszkodzeniu śródbłónka i inicjacji powstawania blaszki miażdżycowej. Wykazano *in vitro*, że przeciwciała anty-HSP60 uczestniczą w cytotoksycznej autoimmunologicznej reakcji skierowanej przeciw komórkom śródbłónka, na powierzchni których doszło do ekspresji HSP60 (116). W doświadczeniach na modelach zwierzęcych wykazano powiązania pomiędzy podwyższonym ciśnieniem tętniczym a zwiększoną ekspresją białek szoku cieplnego (83;148). Pockley i wsp. oraz Frostegard i wsp. wykazali występowanie podwyższonego poziomu przeciwciał anty-HSP65 oraz podwyższony poziom przeciwciał skierowanych przeciw komórkom śródbłónka u osób z nadciśnieniem tętniczym (30;31;93;94). Sugerują oni, że wzmożona ekspresja HSP może stanowić wytłumaczenie przyspieszonego rozwoju zmian miażdżycowych w nadciśnieniu tętniczym.

W pracy własnej nie stwierdzono różnic w poziomie przeciwciał anty-HSP60 pomiędzy grupą z nadciśnieniem a grupą kontrolną. Nie stwierdzono także różnic w poziomach anty-HSP60 pomiędzy grupą z nadciśnieniem tętniczym oraz TOD/ACC a pozostałymi osobami z nadciśnieniem. Wykazano słabe korelowanie poziomu anty-HSP60 z poziomem kreatyniny i tendencję do korelacji z IMT - w analizie wieloczynnikowej okazały się one nieistotne. Podobne wyniki uzyskał Pockley i wsp. oceniając poziom HSP60, HSP70,

oraz anty-HSP60, anty-HSP70 i anty-HSP65 u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym. Autorzy ci wykazali wyższy poziom HSP60 ale nie anty-HSP60 oraz korelację pomiędzy HSP60 (ale nie anty-HSP60) a grubością ściany naczyniowej tętniczych. Sugeruje to obecność zwiększonej ekspresji białek HSP60 w nadciśnieniu tętniczym bez wzmożonej reakcji autoimmunologicznej skierowanej przeciw nim przez anty-HSP60 (93).

Należy zauważyć, że duża część prac oceniających rolę HSP w chorobach układu sercowo-naczyniowego dotyczyła przeciwciał skierowanych przeciw HSP65 (bakteryjny HSP), zakładając znaczną reakcję krzyżową z ludzkim HSP60. Obecnie niektórzy autorzy sugerują, że reakcja krzyżowa jest jednak słaba. Tak więc podwyższony poziom anty-HSP65 mógłby odzwierciedlać jedynie obecność infekcji bakteryjnej działającej pro-miażdżycowo poprzez bezpośrednie i pośrednie mechanizmy zapalne a nie pro-miażdżycowy wpływ na drodze immunologicznej. Tłumaczyło by to obserwowaną w badaniach rozbieżność: wyższe poziomy HSP60 i anty-HSP65 a brak podwyższonego poziomu anty-HSP60 w nadciśnieniu tętniczym.

Fibrynogen

Fibrynogen będąc białkiem ostrej fazy oraz ważnym elementem układu hemostatycznego może stanowić jedno z ogniw łączących przewlekły stan zapalny ze zwiększonym ryzykiem rozwoju miażdżycy i jej powikłań. Zazwyczaj obserwowany poziom fibrynogenu tj. 1.5 – 4.5 g/l znacznie przekracza poziom niezbędny dla prawidłowej hemostazy. Postuluje się, że poziom fibrynogenu w górnych granicach tego zakresu może odzwierciedlać zwiększoną gotowość prozakrzepową. Uważa się, że zwiększając lepkość krwi fibrynogen może wpływać, poprzez wzrost oporu obwodowego, na wartości CTK. Potwierdzają to badania wykazujące podwyższony poziom fibrynogenu u osób z nadciśnieniem tętniczym oraz dodatnią korelację z wartościami CTK (69;79).

W niniejszej pracy wykazano występowanie wyższego poziomu fibrynogenu u osób z nadciśnieniem tętniczym (2.56 vs. 2.89 g/l). Korelacje pomiędzy poziomem fibrynogenu a skurczowym ciśnieniem krwi wykazano m.in. w badaniu Goteborg-MONICA (21). Wyższy poziom fibrynogenu u pacjentów z NT obserwowano także w badaniu przeprowadzonym w populacji Warszawy objętej programem Pol-MONICA. na populacji Polski - Pol-MONICA Warszawa (95). Hiperfibrynogemię obserwowano w tym badaniu u 21.2 % osób z nadciśnieniem vs. 12.7% osób z prawidłowym ciśnieniem.

Znaczenie fibrynogenu jako czynnika ryzyka chorób o podłożu miażdżycowym jest dobrze udokumentowane (16;142). Pojedyncze badania wskazują, że fibrynogen może być również czynnikiem usposabiającym do rozwoju uszkodzeń narządowych i powikłań miażdżycowych w nadciśnieniu tętniczym. W pracy własnej stwierdzono występowanie istotnie wyższego poziomu fibrynogenu w podgrupie osób z nadciśnieniem tętniczym oraz TOD/ACC w podgrupie bez TOD/ACC. W badaniu wykazano również występowanie korelacji poziomu fibrynogenu z następującymi parametrami: grubością kompleksu intima-media ($r=0.36$, $p=0.0001$) oraz E/A ($r=-0.25$, $p=0.001$). Powiązania fibrynogenu z IMT zachowały istotność również w

analizie wieloczynnikowej po uwzględnieniu poziomu lipidów, wieku, palenia papierosów, IgG anty-Ch.p. i BMI. Wyniki te mogą odzwierciedlać istnienie związków pomiędzy fibrynogenem a występowaniem powikłań i uszkodzeń narządowych zwłaszcza przebudową naczyń tętniczych. Taką interpretację wspierają wyniki opublikowanych prac badawczych. W badaniu Leigh Study podwyższony poziom fibrynogenu, powyżej 3.5 g/L, kilkunastokrotnie zwiększał ryzyko wystąpienia powikłań sercowo-naczyniowych u badanych osób z nadciśnieniem tętniczym w stosunku do nadciśnieniowców z fibrynogenem poniżej 2.9 g/L (129). W badaniu Strong Heart Study, oceniającym wpływ fibrynogenu na występowanie przedklinicznych zmian narządowych w populacji ogólnej, stwierdzono w podgrupie z wyższym poziomem fibrynogenu wyższe wartości LVMI, wskaźników sztywności naczyń, oraz poziomu kreatyniny. Poziom fibrynogenu >3.8 g/l był związany z 1.5 raza większym prawdopodobieństwem występowania LVH (88). Podobne są wyniki Sechi i wsp. oceniających wpływ fibrynogenu na występowanie powikłań narządowych. W badaniu tym stwierdzono występowanie wyższego poziomu fibrynogenu u osób z nadciśnieniem tętniczym (3.32 vs 3.56 g/l). Również porównując poziom fibrynogenu pomiędzy grupami z nadciśnieniem bez TOD vs. z TOD stwierdzono wyższy poziom w grupie z TOD (3.35 vs 4.15 g/l) (119). Zwraca uwagę, że w badaniach omawianych powyżej bezwzględne różnice pomiędzy grupami w poziomie fibrynogenu były bardzo podobne do obserwowanych w niniejszej pracy. W grupach z obecnością TOD/ACC obserwowano poziom fibrynogenu wyższy o ok. 0.5-0.8 g/l w stosunku do grupy kontrolnej.

Nie wiadomo czy fibrynogen prowadzi do podwyższenia CTK czy odwrotnie - nadciśnienie tętnicze per se wywołuje stan zwiększonej krzepliwości krwi, wyrażony m.in. podwyższonym poziomem fibrynogenu, czy też fibrynogen jest kolejnym czynnikiem ryzyka mającym tendencję do współwystępowania z nadciśnieniem (21;60;70). Niemniej fakt występowania u osób z nadciśnieniem tętniczym podwyższonego poziomu fibrynogenu oraz

jego związki z występowaniem uszkodzeń narządowych i powikłań sercowo-naczyniowych sugerują jego rolę w nadciśnieniu tętniczym.

Wpływ infekcji na poziom markerów zapalnych i anty-HSP60

Jedną z hipotez tłumaczących znaczenie markerów zapalenia w miażdżycy zakłada, że ich podwyższony poziom jest następstwem przewlekłej subklinicznej infekcji bakteryjnej lub wirusowej. Sugeruje się również, że infekcja *Chlamydia pneumoniae*, patogenem posiadającym zbliżone strukturalnie białka szoku cieplnego, jest prawdopodobnie częściowo odpowiedzialna za reakcję auto-immunologiczną skierowaną przeciw ludzkim białkom szoku cieplnego – wyrażającą się zwiększonym stężeniem anty-HSP60.

Obecnie brak pewnych dowodów że Ch.p. czy inny patogen rzeczywiście powoduje podwyższenie poziomu markerów, jednak niektóre badania oraz dowody pośrednie wspierają tę koncepcję – np. obniżenie poziomu fibrynogenu i CRP po terapii antybiotykami skierowanymi przeciw Ch.p. (134).

W niniejszej pracy stwierdzono korelację niewielkiego stopnia pomiędzy poziomem przeciwciał anty-*Chlamydia pneumoniae* a CRP ($r = 0.17$, $p = 0.04$), a także pomiędzy poziomem przeciwciał anty-CMV a CRP ($r = 0.20$, $p = 0.01$) – vide tabela 15. Podobne korelacje, tak dla Ch.p. jak i CMV były już uprzednio opisywane w kilku badaniach (18;48;157). Jakkolwiek nie dowodzi to, że infekcja Ch.p. czy CMV powoduje podwyższenie CRP, to wytłumaczenie takie w świetle obecnej wiedzy jest prawdopodobne.

W badaniu wykazano także korelację pomiędzy poziomem przeciwciał anty-*Chlamydia pneumoniae* a anty-HSP60 ($r = 0.19$, $p = 0.02$). Jest to najpewniej rezultatem mimikry molekularnej - obecności na powierzchni Ch.p. zbliżonych antygenowo białek - chlamydiowego HSP60. Na drodze tego mechanizmu infekcja *Chlamydia pneumoniae* może prowadzić do autoimmunologicznej reakcji skierowanej przeciw komórkom śródbłonna – i promowaniu przebudowy miażdżycowej naczyń. Korespondowało by to z obserwowaną w niniejszej pracy korelacją pomiędzy infekcją Ch.p. a IMT

tętnic szyjnych ($r=0.28$, $p=0.001$) a także tendencją do korelacji poziomu przeciwciał anti-HSP60 z IMT ($r = 0.14$, $p = 0.09$).

Korelacje pomiędzy infekcją Ch.p i CMV a markerami zapalenia, jakkolwiek istotne statystycznie, tłumaczą jedynie niewielki procentowo odsetek zmienności CRP i anti-HSP60. Tak więc nawet jeżeli rzeczywiście wynikają one z omówionych powyżej związków przyczynowo-skutkowych pomiędzy infekcją a zapaleniem to muszą też istnieć inne przyczyny odpowiedzialne za ich podwyższony poziom. W świetle obecnej wiedzy coraz mniej prawdopodobne wydaje się aby jedna konkretna bakteria czy wirus była odpowiedzialna za podwyższony poziom CRP czy rozwój miażdżycy. Oceniane w badaniach patogeny (wirusy cytomegalii, zapalenia wątroby typu A, opryszczki typ 1, opryszczki typ 2, Epstein-Barr, i bakterie: Chlamydia pneumoniae, Helicobacter pylori) niosą indywidualnie stosunkowo niewielki wzrost względnego ryzyka wystąpienia choroby o podłożu miażdżycowym. Dlatego coraz częściej badając wpływ czynników infekcyjnych ocenia się nie jedną wybraną bakterię czy wirusa lecz całą plejadę podejrzanych patogenów – tzw. patogen burden - czyli całkowite „obciążenie” organizmu przebytymi infekcjami, które wyraża się podwyższonym poziomem właściwych dla tych patogenów przeciwciał (25;108;156;158). Patogen burden lepiej koreluje z poziomem CRP niż osobno oceniane infekcje poszczególnymi patogenami. Odzwierciedlają to również wyniki analizy wieloczynnikowej w niniejszym badaniu: poziom CRP poza BMI był determinowany tylko przez przeciwciała anti-Ch.p i anti-CMV (wielokrotny $r = 0.38$, $p < 0.0001$). Jeżeli znaczenie tak ocenianej ekspozycji organizmu na liczne czynniki zakaźne zostanie potwierdzone, będziemy dysponować nowym, być może modyfikowalnym, czynnikiem ryzyka.

WNIOSKI

1. Wyższy poziom markerów zapalenia (C-reaktywne, fibrynogen) u chorych z nadciśnieniem tętniczym wskazuje na obecność przewlekłego subklinicznego odczynu zapalnego.
2. Wyższy poziom markerów zapalenia (białko C-reaktywne, fibrynogen) u osób z nadciśnieniem powikłanym występowaniem uszkodzeń narządowych (TOD) oraz chorób powiązanych (ACC) sugeruje udział białka C-reaktywnego i fibrynogenu w ich rozwoju.
3. Dodatnie korelacje między markerami zapalenia i infekcji (poziom przeciwciał anty-Chlamydia pneumoniae i anty-CMV) a występowaniem lub nasileniem uszkodzeń narządowych obserwowanych w nadciśnieniu mogą odzwierciedlać istnienie związków przyczynowo-skutkowych pomiędzy zapaleniem oraz infekcją a występowaniem uszkodzeń narządowych w nadciśnieniu tętniczym.
4. Stwierdzenie zależności poziomu białka C-reaktywnego u osób z nadciśnieniem tętniczym od infekcji Chlamydia pneumoniae i infekcji CMV oraz zależności poziomu anty-HSP60 od infekcji Chlamydia pneumoniae wskazuje na rolę infekcji tymi patogenami w indukcji przewlekłego utajonego odczynu zapalnego u osób z nadciśnieniem tętniczym.
5. Oznaczanie poziomu markerów zapalenia: białka C-reaktywnego i fibrynogenu, może być pomocne w ocenie całkowitego ryzyka i leczeniu chorych z nadciśnieniem tętniczym.

STRESZCZENIE

Nadciśnienie tętnicze rzadko występuje jako izolowane schorzenie, zazwyczaj współistnieje z zaburzeniami metabolicznymi będącymi czynnikami zagrożenia chorobami układu sercowo-naczyniowego. Całkowite ryzyko powikłań u osób z nadciśnieniem tętniczym jest często w większym stopniu zależne od obecności tych właśnie współwystępujących czynników ryzyka niż podwyższonych wartości ciśnienia tętniczego krwi. Głównym celem leczenia nadciśnienia tętniczego jest zmniejszenie występowania powikłań sercowo-naczyniowych. Decyzja o wdrożeniu leczenia jest uzależniona od oceny całkowitego ryzyka. Dlatego też w wytycznych towarzystw naukowych klasyczne, współwystępujące czynniki ryzyka są ważnym elementem oceny klinicznej chorych z nadciśnieniem tętniczym. W ostatnich latach coraz częściej do czynników wpływających na wystąpienie chorób o podłożu miażdżycowym zalicza się markery zapalenia i infekcji takie jak białko C-reaktywne, fibrynogen, białka szoku cieplnego, przeciwciała anty-Chlamydia pneumoniae oraz anty-CMV.

Rozpoczynając badanie założono, że u osób z nadciśnieniem tętniczym częściej niż u zdrowych obecne mogą być markery infekcji i przewlekłego zapalenia. Z kolei przewlekłe, subkliniczne zapalenie manifestujące się podwyższonym poziomem CRP i/lub fibrynogenu oraz przebyta infekcja Chlamydia pneumoniae i/lub CMV (przeciwciała IgG) mogą predysponować do występowania powikłań narządowych u chorych na nadciśnienie.

Przedmiotem badania była ocena poziomów markerów zapalenia i infekcji u osób z nadciśnieniem tętniczym, a także ocena zależności pomiędzy tymi markerami a występowaniem lub nasileniem wybranych zmian narządowych. Oceniano również powiązania pomiędzy infekcją Chlamydia pneumoniae i wirusem cytomegalii, a markerami przewlekłego zapalenia i przeciwciałami anty-HSP60.

Badaniami objęto 160 osób; 119 z rozpoznanym i leczonym ciężkim lub umiarkowanym pierwotnym nadciśnieniem tętniczym w wieku powyżej 20 lat oraz 41 zdrowych osób z prawidłowym ciśnieniem tętniczym. U każdego na podstawie wywiadu oraz dostępnej dokumentacji medycznej wykluczono ostrą chorobę zapalną w ciągu ostatnich 6 tygodni jak i przewlekłą chorobę zapalną lub infekcyjną, chorobę autoimmunologiczną, nowotworową, zaawansowaną niewydolność serca, cukrzycę lub inne schorzenia endokrynologiczne, a także zawał serca lub udar mózgu w poprzedzających 3 miesiącach. Do grupy porównawczej rekrutowano zdrowych ochotników dobranych pod względem płci i wieku. Były to osoby z prawidłowym ciśnieniem tętniczym krwi tak w standardowych pomiarach jak i w 24-godzinny automatycznym monitorowaniu ciśnienia tętniczego krwi (ABPM), bez wywiadu nadciśnieniowego oraz nie leczące się z powodu innych chorób.

U wszystkich badanych pobrano na czczo próbki krwi celem wykonania następujących oznaczeń biochemicznych: poziom CRP metodą ultraczulą, poziom fibrynogenu, lipidogram, poziom kreatyniny oraz przeciwciał IgG anty-Chlamydia pneumoniae, IgG anty-CMV i anty-HSP60. Obecność chorób powiązanych (ACC) oceniono na podstawie wywiadu oraz dostępnej dokumentacji medycznej. Występowanie wybranych zmian lub uszkodzeń narządowych (TOD) oceniono wykonując wymienione poniżej badania. Badanie echokardiograficzne wykonano aparatem Sonos 2000 w projekcji M-mode oraz w projekcji 2D z oceną dopplerowską stosując głowicę 2.5 MHz. Oceniono występowanie przerostu mięśnia lewej komory serca oraz obecność dysfunkcji rozkurczowej lewej komory. Badanie ultrasonograficzne tętnic szyjnych wykonano aparatem Sonos 2000 w projekcji B-mode, głowicą 7.5 MHz, oceniając grubość kompleksu błony środkowej i wewnętrznej tętnic szyjnych (IMT). Przy pomocy aparatu komputerowego Complior oceniono prędkość fali tętna (PWV). Za wyznacznik upośledzonej funkcji nerek (TOD) przyjęto kreatyninemię w zakresie 106-176 $\mu\text{mol/l}$.

W oparciu o przeprowadzone badania podzielono osoby z nadciśnieniem tętniczym na dwie grupy: chorych bez powikłań czy chorób powiązanych oraz chorych z TOD i ACC. Grupy zostały porównane pomiędzy sobą oraz w stosunku do grupy osób zdrowych pod względem ocenianych markerów zapalenia i poziomów przeciwciał. Grupy porównano również w zakresie wieku, płci oraz występowania pozostałych czynników ryzyka: hiperlipidemii, palenia papierosów i otyłości.

W analizie statystycznej zastosowano tak metody parametryczne (ANOVA, test t-Studenta) jaki i nieparametryczne: korelacje Spearmana, chi-kwadrat, test Manna-Whitneya. Wykonywano analizę wieloczynnikową (ANCOVA, regresję wielokrotną) gdy współwystępowały czynniki zaburzające.

Wykazano występowanie wyższego poziomu białka C-reaktywnego w całej grupie z nadciśnieniem tętniczym: 2.39 vs. 1.05 mg/l w grupie kontrolnej ($p = 0.001$). Stwierdzono, że osoby z nadciśnieniem tętniczym powikłanym obecnością TOD lub ACC ($n=96$) mają wyższy poziom CRP (2.66 mg/l) oraz fibrynogenu (2.95 g/l) tak w stosunku do grupy kontrolnej (CRP=1.05 mg/l, fibrynogen=2.56 g/l) jak i w stosunku do osób z nadciśnieniem tętniczym bez TOD lub ACC (CRP=1.25 mg/l, fibrynogen=2.63 g/l). Nie stwierdzono natomiast różnic pomiędzy grupą kontrolną a osobami z nadciśnieniem tętniczym bez TOD lub ACC. W analizie wieloczynnikowej, po uwzględnieniu zmiennych zaburzających (wiek, BMI, palenie papierosów, leczenie statyną) różnice w poziomach CRP i fibrynogenu nadal zachowały istotność statystyczną. Poziom CRP powyżej 3 mg/l stwierdzono u 23 % osób z nadciśnieniem i TOD/ACC, u 5 % grupy kontrolnej i u żadnej z osób z nadciśnieniem bez TOD/ACC ($p = 0.02$). W badaniu tym nie wykazano różnic w poziomie przeciwciał anty-Chlamydia pneumoniae i anty-CMV pomiędzy grupami.

Stwierdzono występowanie wyższego poziomu CRP i fibrynogenu w podgrupie z TOD a bez ACC oraz korelację pomiędzy poziomem CRP a zaawansowaniem niektórych zmian/uszkodzeń narządowych: IMT ($r = 0.21$,

$p = 0.01$), poziomem kreatyniny ($r = 0.16$, $p = 0.05$), IVRT ($r = 0.36$, $p = 0.001$), E/A ($r = -0.21$, $p = 0.01$) oraz PWV ($r = 0.16$, $p = 0.05$). Ponadto wykazano korelację poziomu fibrynogenu z następującymi parametrami: IMT ($r = 0.36$, $p = 0.0001$) oraz E/A ($r = -0.25$, $p = 0.001$). Stwierdzono występowanie istotnych korelacji pomiędzy przeciwciałami anti-Ch.p. a IMT ($r = 0.28$, $p = 0.001$) i poziomem kreatyniny ($r = 0.22$, $p = 0.003$).

Zarówno poziom przeciwciał anti-Chlamydia pneumoniae jak i poziom przeciwciał anti-CMV korelował dodatnio z poziomem CRP; współczynniki korelacji wynosiły odpowiednio $r = 0.17$ ($p = 0.04$) i $r = 0.20$, ($p = 0.01$).

Osoby z nadciśnieniem tętniczym charakteryzowały się występowaniem wyższych poziomów markerów zapalenia (CRP, fibrynogen) co najpewniej odzwierciedla częstsze występowanie w nadciśnieniu tętniczym przewlekłego subklinicznego odczynu zapalnego. Stwierdzono również występowanie wyższego poziomu markerów zapalenia (CRP, fibrynogen) u osób z nadciśnieniem powikłanym obecnością uszkodzeń narządowych (TOD) oraz chorób powiązanych (ACC). Markery zapalenia a także poziom przeciwciał anti-Chlamydia pneumoniae i anti-CMV korelowały dodatnio z występowaniem/nasileniem licznych uszkodzeń narządowych obserwowanych w nadciśnieniu (uszczywnienie tętnic, pogrubienie kompleksu intima-media ściany tętnic, dysfunkcja rozkurczowa lewej komory, upośledzenie funkcji nerek). Może to odzwierciedlać istnienie związków przyczynowo-skutkowych pomiędzy zapaleniem oraz infekcją a występowaniem zmian w układzie sercowo-naczyniowym charakterystycznych dla nadciśnienia. Jest więc prawdopodobne, że oznaczanie poziomu CRP i fibrynogenu może być pomocne w ocenie globalnego ryzyka u osób z nadciśnieniem tętniczym.

W niniejszym badaniu poziom CRP był częściowo zależny od infekcji Chlamydia pneumoniae oraz infekcji wirusem cytomegalii. Natomiast poziom przeciwciał anti-HSP60 był powiązany wyłącznie z występowaniem infekcji Chlamydia pneumoniae. Może to wskazywać na rolę infekcji w indukcji utajonego, przewlekłego odczynu zapalnego.

SPIS TABEL i RYCIN

TABELE

Tabela 1. Podstawowe dane demograficzne badanej grupy.....	30
Tabela 2. Porównanie grupy chorych na nadciśnienie tętnicze z grupą kontrolną (zdrowi normotonicy).	43
Tabela 3: Porównanie podgrup chorych z nadciśnieniem tętniczym.....	45
Tabela 4. Porównanie poziomu markerów zapalenia i infekcji pomiędzy chorymi na nadciśnienie tętnicze a grupą kontrolną (zdrowi normotonicy).	47
Tabela 5. Porównanie poziomu markerów zapalenia i infekcji pomiędzy chorymi na nadciśnienie tętnicze a grupą kontrolną (zdrowi normotonicy). Dane skorygowane po uwzględnieniu w analizie wieloczynnikowej BMI, wieku i palenia papierosów, przyjmowania statyn.	48
Wyniki analizy przeprowadzonej po podzieleniu materiału na 4 podgrupy: 1. nadciśnienie tętnicze bez TOD/ACC, 2. nadciśnienie tętnicze z TOD ale bez ACC, 3. nadciśnienie tętnicze z ACC, 4. zdrowi normotonicy, przedstawia tabela 8. Stwierdzono że	49
Tabela 6. Markery zapalenia i infekcji w grupach chorych na nadciśnienie tętnicze z oraz bez TOD/ACC oraz w grupie kontrolnej (zdrowi normotonicy).	50

Tabela 7. Markery zapalenia i infekcji w grupach chorych na nadciśnienie tętnicze z oraz bez TOD/ACC oraz w grupie kontrolnej (zdrowi normotonicy). Dane skorygowane po uwzględnieniu w analizie wieloczynnikowej BMI, wieku i palenia papierosów.	51
Tabela 8. Markery zapalenia i infekcji po podzieleniu materiału na cztery podgrupy.	52
Tabela 9. Rozkład CRP po podzieleniu wartości na trzy kategorie w zależności od przypisanego ryzyka.	55
Tabela 11. Korelacje pomiędzy fibrynogenem a ocenianymi zmianami narządowymi oraz potencjalnymi zmiennymi zaburzającymi.	59
Tabela 12. Korelacje pomiędzy poziomem przeciwciał anti-Chlamydia pneumoniae, anti-CMV oraz anti-HSP60 a ocenianymi zmianami narządowymi i wiekiem.	61
Tabela 13. Porównanie osób seropozytywnych i seronegatywnych w kierunku infekcji Chlamydia pneumoniae.	63
Tabela 14. Porównanie osób seropozytywnych i seronegatywnych w kierunku infekcji wirusem cytomegalii.	64
Tabela 15. Korelacje pomiędzy przeciwciałami anti-Chlamydia pneumoniae i anti-CMV a markerami zapalenia i anti-HSP60.	65

RYCINY

Rycina 1. Pomiar IMT - badanie ultrasonograficzne tętnicy szyjnej wspólnej, projekcja B-mode. A - prawidłowa grubość IMT, B – pogrubienie IMT.	39
Rycina 2. Pomiar PWV. A – pierwszy przetwornik, pomiar nad tętnicą szyjną, B – drugi przetwornik, pomiar nad tętnicą udową. D – odległość pomiędzy przetwornikami, ΔT – różnica czasu pomiędzy początkami fal tętna w pkt. A i B.....	40
Rycina 3. Rozkład CRP w badanej grupie.	54
Rycina 4. Rozkład CRP po znormalizowaniu logarytmicznym.....	54
Rycina 5. Korelacja pomiędzy CRP a IVRT, $r = 0.34$, $p = 0.001$	56
Rycina 6. Rozkład poziomu fibrynogenu w badanej grupie.....	58
Rycina 7. Rozkład poziomu fibrynogenu w badanej grupie po przekształceniu logarytmicznym.....	58
Rycina 8. Korelacja pomiędzy poziomem fibrynogenu a IMT, $r = 0.36$, $p = 0.0001$	59
Rycina 9. Wykres rozrzutu przeciwciał anti-Chlamydia pneumoniae a IMT. Współczynnik korelacji Spearmana $r = 0.28$, $p = 0.001$	62
Rycina 10. Wykres rozrzutu przeciwciał anti-CMV a PWV. Współczynnik korelacji Spearmana $r = 0.28$, $p = 0.001$	62

PIŚMIENICTWO

1. Adam E, Melnick JL, Probstfield JL i wsp. High levels of cytomegalovirus antibody in patients requiring vascular surgery for atherosclerosis. *Lancet* 1987;2:291-3.
2. Anderson JL, Muhlestein JB, Carlquist J i wsp. Randomized secondary prevention trial of azithromycin in patients with coronary artery disease and serological evidence for *Chlamydia pneumoniae* infection: The Azithromycin in Coronary Artery Disease: Elimination of Myocardial Infection with *Chlamydia* (ACADEMIC) study. *Circulation* 1999;99:1540-7.
3. Bautista LE, Lopez-Jaramillo P, Vera LM, Casas JP, i wsp. Is C-reactive protein an independent risk factor for essential hypertension? *J Hypertens* 2001;19:857-61.
4. Biasucci LM, Liuzzo G, Grillo RL i wsp. Elevated levels of C-reactive protein at discharge in patients with unstable angina predict recurrent instability. *Circulation* 1999;99:855-60.
5. Blacher J, Asmar R, Djane S, i wsp. Aortic pulse wave velocity as a marker of cardiovascular risk in hypertensive patients. *Hypertension* 1999;33:1111-7.
6. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C i wsp. Cytomegalovirus infection with interleukin-6 response predicts cardiac mortality in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001;103:2915-21.

7. Bots ML, Breslau PJ, Briet E i wsp. Cardiovascular determinants of carotid artery disease. The Rotterdam Elderly Study. *Hypertension* 1992;19:717-20.
8. Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, i wsp. Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation* 1997;96:1432-7.
9. Bots ML, Hofman A, de Jong PT, Grobbee DE. Common carotid intima-media thickness as an indicator of atherosclerosis at other sites of the carotid artery. The Rotterdam Study. *Ann Epidemiol* 1996;6:147-53.
10. Braunwald E. Shattuck lecture--cardiovascular medicine at the turn of the millennium: triumphs, concerns, and opportunities. *N Engl J Med* 1997;337:1360-9.
11. Cifkova R, Frohlich J, Novozamska E i wsp. Female but Not Male Hypertensives Have Elevated C-Reactive Protein. A Population-Based Study. [abstr]. *J Hypertens* 2002;20 (suppl. 4):S177.
12. Cook DG, Mendall MA, Whincup PH i wsp. C-reactive protein concentration in children: relationship to adiposity and other cardiovascular risk factors. *Atherosclerosis* 2000;149:139-50.
13. Cook PJ, Honeybourne D, Lip GY, i wsp. Chlamydia pneumoniae antibody titers are significantly associated with acute stroke and transient cerebral ischemia: the West Birmingham Stroke Project. *Stroke* 1998;29:404-10.
14. Cook PJ, Lip GY, Davies P, i wsp. Chlamydia pneumoniae antibodies in severe essential hypertension. *Hypertension* 1998;31:589-94.
15. Dalekos GN, Elisaf M, Bairaktari E, i wsp. Increased serum levels of interleukin-1beta in the systemic circulation of patients with essential

hypertension: additional risk factor for atherogenesis in hypertensive patients? *J Lab Clin Med* 1997;129:300-8.

16. Danesh J, Collins R, Appleby P, Peto R. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies. *JAMA* 1998;279:1477-82.
17. Danesh J, Collins R, Peto R. Chronic infections and coronary heart disease: is there a link? *Lancet* 1997;350:430-6.
18. de Maat MP, Kluft C. Determinants of C-reactive protein concentration in blood. *Ital Heart J* 2001;2:189-95.
19. Dechend R, Maass M, Gieffers J i wsp. Chlamydia pneumoniae infection of vascular smooth muscle and endothelial cells activates NF-kappaB and induces tissue factor and PAI-1 expression: a potential link to accelerated arteriosclerosis. *Circulation* 1999;100:1369-73.
20. Devereux RB, Alonso DR, Lutas EM i wsp. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am J Cardiol* 1986;57:450-8.
21. Dotevall A, Johansson S, Wilhelmsen L. Association between fibrinogen and other risk factors for cardiovascular disease in men and women. Results from the Goteborg MONICA survey 1985. *Ann Epidemiol* 1994;4:369-74.
22. Dubois D, Dubois EF. A Formula to Estimate the Approximate Surface Area If Height and Weight Be Known. *Arch Intern Med* 1916;17:863-871.

23. Elkind MS, Lin IF, Grayston JT, Sacco RL. Chlamydia pneumoniae and the risk of first ischemic stroke : The Northern Manhattan Stroke Study. *Stroke* 2000;31:1521-5.
24. Erlandsen EJ, Randers E. Reference interval for serum C-reactive protein in healthy blood donors using the Dade Behring N Latex CRP mono assay. *Scand J Clin Lab Invest* 2000;60:37-43.
25. Espinola-Klein C, Rupprecht HJ, Blankenberg S i wsp. Impact of infectious burden on extent and long-term prognosis of atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:15-21.
26. Fagerberg B, Gnarpe J, Gnarpe H, i wsp. Chlamydia pneumoniae but not cytomegalovirus antibodies are associated with future risk of stroke and cardiovascular disease: a prospective study in middle-aged to elderly men with treated hypertension. *Stroke* 1999;30:299-305.
27. Fernandez-Miranda C, Paz M, Aranda JL i wsp. Chronic Chlamydia pneumoniae infection in patients with coronary disease. Relation with increased fibrinogen values. *Med Clin* 2002;119:561-4.
28. Folsom AR, Pankow JS, Tracy RP i wsp. Association of C-reactive protein with markers of prevalent atherosclerotic disease. *Am J Cardiol* 2001;88:112-7.
29. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499-502.
30. Frostegard J, Lemne C, Andersson B, i wsp. Association of serum antibodies to heat-shock protein 65 with borderline hypertension. *Hypertension* 1997;29:40-4.

31. Frostegard J, Wu R, Gillis-Haegerstrand C, i wsp. Antibodies to endothelial cells in borderline hypertension. *Circulation* 1998;98:1092-8.
32. Fryer RH, Schwobe EP, Woods ML, Rodgers GM. Chlamydia species infect human vascular endothelial cells and induce procoagulant activity. *J Investig Med* 1997;45:168-74.
33. Gaciong Z. Wpływ terapii hipotensyjnej na strukturę i czynność tętnic. *Med Dypl* 1998;9-19.
34. Gaciong Z. Nadciśnienie tętnicze w przebiegu chorób nerek. *Pol Arch Med Wewn* 1999;102 Spec No:85-90.
35. Gaydos CA, Summersgill JT, Sahney NN, i wsp. Replication of *Chlamydia pneumoniae* in vitro in human macrophages, endothelial cells, and aortic artery smooth muscle cells. *Infect Immun* 1996;64:1614-20.
36. Godzik KL, O'Brien ER, Wang SK, Kuo CC. In vitro susceptibility of human vascular wall cells to infection with *Chlamydia pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 1995;33:2411-4.
37. Grayston JT, Kuo CC, Coulson AS i wsp. *Chlamydia pneumoniae* (TWAR) in atherosclerosis of the carotid artery. *Circulation* 1995;92:3397-400.
38. Grodzicki T, Michalewicz L, Messerli FH. Aging and essential hypertension: effect of left ventricular hypertrophy on cardiac function. *Am J Hypertens* 1998;11:425-9.
39. Grodzicki T, Palmer A, Bulpitt CJ. Incidence of diabetes and gout in hypertensive patients during 8 years of follow-up. The General Practice Hypertension Study Group. *J Hum Hypertens* 1997;11:583-5.

40. Gupta S, Leatham EW, Carrington D, i wsp. Elevated Chlamydia pneumoniae antibodies, cardiovascular events, and azithromycin in male survivors of myocardial infarction. *Circulation* 1997;96:404-7.
41. Gurfinkel E, Bozovich G, Beck E, i wsp. Treatment with the antibiotic roxithromycin in patients with acute non-Q-wave coronary syndromes. The final report of the ROXIS Study. *Eur Heart J* 1999;20:121-7.
42. Haffner SM, Ferrannini E, Hazuda HP, Stern MP. Clustering of cardiovascular risk factors in confirmed prehypertensive individuals. *Hypertension* 1992;20:38-45.
43. Hammond IW, Devereux RB, Alderman MH i wsp. The prevalence and correlates of echocardiographic left ventricular hypertrophy among employed patients with uncomplicated hypertension. *J Am Coll Cardiol* 1986;7:639-50.
44. Harats D, Shaish A, George J i wsp. Overexpression of 15-lipoxygenase in vascular endothelium accelerates early atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:2100-5.
45. Harvey R, Lane A, Murray L, i wsp. Effect of Helicobacter pylori infection on blood pressure: a community based cross sectional study. *BMJ* 2001;323:264-5.
46. Hendrix MG, Salimans MM, van Boven CP, Bruggeman CA. High prevalence of latently present cytomegalovirus in arterial walls of patients suffering from grade III atherosclerosis. *Am J Pathol* 1990;136:23-8.

47. Jarvisalo MJ, Harmoinen A, Hakanen M i wsp. Elevated serum C-reactive protein levels and early arterial changes in healthy children. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1323-8.
48. Johnston SC, Messina LM, Browner WS, i wsp. C-reactive protein levels and viable *Chlamydia pneumoniae* in carotid artery atherosclerosis. *Stroke* 2001;32:2748-52.
49. Kaftan HA, Kaftan O, Kilic M. Markers of chronic infection and inflammation. Are they important in cases with chronic coronary heart disease. *Jpn Heart J* 1999;40:275-80.
50. Kannel WB. Potency of vascular risk factors as the basis for antihypertensive therapy. *Eur Heart J* 1992;13 Suppl G:34-42.
51. Kannel WB, Garrison RJ, Dannenberg AL. Secular blood pressure trends in normotensive persons: the Framingham Study. *Am Heart J* 1993;125:1154-8.
52. Kattermann R, Jaworek D, Moller G i wsp. Multicentre study of a new enzymatic method of cholesterol determination. *J Clin Chem Clin Biochem* 1984;22:245-51.
53. Kaul R, Wenman WM. *Chlamydia pneumoniae* facilitates monocyte adhesion to endothelial and smooth muscle cells. *Microb Pathog* 2001;30:149-55.
54. Kiechl S, Egger G, Mayr M i wsp. Chronic infections and the risk of carotid atherosclerosis: prospective results from a large population study. *Circulation* 2001;103:1064-70.
55. Koenig W, Sund M, Frohlich M i wsp. C-Reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men: results from the MONICA

(Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease)
Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation* 1999;99:237-42.

56. Korner PI, Jennings GL. Assessment of prevalence of left ventricular hypertrophy in hypertension. *J Hypertens* 1998;16:715-23.
57. Kuller LH, Tracy RP, Shaten J, Meilahn EN. Relation of C-reactive protein and coronary heart disease in the MRFIT nested case-control study. Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Am J Epidemiol* 1996;144:537-47.
58. Laitinen K, Laurila A, Pyhala L, i wsp. Chlamydia pneumoniae infection induces inflammatory changes in the aortas of rabbits. *Infect Immun* 1997;65:4832-5.
59. Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R i wsp. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension* 2001;37:1236-41.
60. Lee AJ. The role of rheological and haemostatic factors in hypertension. *J Hum Hypertens* 1997;11:767-76.
61. Lee AJ, Mowbray PI, Lowe GD, i wsp. Blood viscosity and elevated carotid intima-media thickness in men and women: the Edinburgh Artery Study. *Circulation* 1998;97:1467-73.
62. Levy D, Garrison RJ, Savage DD, i wsp. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *N Engl J Med* 1990;322:1561-6.
63. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N i wsp. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet* 2002;360:1903-13.

64. Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation* 1995;91:2844-50.
65. Libby, P. The vascular biology of atherosclerosis. W: Braunwald E., Zipes DP., Libby P., Heart Disease 6th ed.. WB Saunders Co Ltd. 995-1009. 2001.
66. Libby P, Egan D, Skarlatos S. Roles of infectious agents in atherosclerosis and restenosis: an assessment of the evidence and need for future research. *Circulation* 1997;96:4095-103.
67. Libby P, Ridker PM. Novel inflammatory markers of coronary risk: theory versus practice. *Circulation* 1999;100:1148-50.
68. Libby P, Warner SJ, Friedman GB. Interleukin 1: a mitogen for human vascular smooth muscle cells that induces the release of growth-inhibitory prostanoids. *J Clin Invest* 1988;81:487-98.
69. Lip GY, Beevers DG. Abnormalities of rheology and coagulation in hypertension. *J Hum Hypertens* 1994;8:693-702.
70. Lip GY, Blann AD. Does hypertension confer a prothrombotic state? Virchow's triad revisited. *Circulation* 2000;101:218-20.
71. Liuba P, Karnani P, Pesonen E i'wsp. Endothelial dysfunction after repeated *Chlamydia pneumoniae* infection in apolipoprotein E-knockout mice. *Circulation* 2000;102:1039-44.
72. Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR i'wsp. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid a protein in severe unstable angina. *N Engl J Med* 1994;331:417-24.
73. Lowe GD, Fowkes FG, Dawes J, i'wsp. Blood viscosity, fibrinogen, and activation of coagulation and leukocytes in peripheral arterial

disease and the normal population in the Edinburgh Artery Study. *Circulation* 1993;87:1915-20.

74. MacMahon S, Peto R, Cutler J i wsp. Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part 1, Prolonged differences in blood pressure: prospective observational studies corrected for the regression dilution bias. *Lancet* 1990;335:765-74.
75. Markus HS, Sitzer M, Carrington D, i wsp. Chlamydia pneumoniae infection and early asymptomatic carotid atherosclerosis. *Circulation* 1999;100:832-7.
76. Mayr M, Kiechl S, Willeit J, Wick G, Xu Q. Infections, immunity, and atherosclerosis: associations of antibodies to Chlamydia pneumoniae, Helicobacter pylori, and cytomegalovirus with immune reactions to heat-shock protein 60 and carotid or femoral atherosclerosis. *Circulation* 2000;102:833-9.
77. Mehta JL, Saldeen TG, Rand K. Interactive role of infection, inflammation and traditional risk factors in atherosclerosis and coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 1998;31:1217-25.
78. Melnick JL, Petrie BL, Dreesman GR, i wsp. Cytomegalovirus antigen within human arterial smooth muscle cells. *Lancet* 1983;2:644-7.
79. Memeh CU. The relationship between body weight and plasma viscosity in hypertensive diabetic Nigerians. *J Hypertens* 1990;8:711-4.
80. Mendall MA, Patel P, Ballam L, i wsp. C reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study. *BMJ* 1996;312:1061-5.

81. Metzler B, Mayr M, Dietrich H i wsp. Inhibition of arteriosclerosis by T-cell depletion in normocholesterolemic rabbits immunized with heat shock protein 65. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:1905-11.
82. Millonig G, Schwentner C, Mueller P, i wsp. The vascular-associated lymphoid tissue: a new site of local immunity. *Curr Opin Lipidol* 2001;12:547-53.
83. Moen RJ, La Voi KP, Zhang M, Blake MJ. Clonidine-Induced Heat-Shock Protein Expression in Rat Aorta. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 1998;3:171-84.
84. Muhlestein JB, Hammond EH, Carlquist JF i wsp. Increased incidence of Chlamydia species within the coronary arteries of patients with symptomatic atherosclerotic versus other forms of cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:1555-61.
85. Muhlestein JB, Horne BD, Carlquist JF i wsp. Cytomegalovirus seropositivity and C-reactive protein have independent and combined predictive value for mortality in patients with angiographically demonstrated coronary artery disease. *Circulation* 2000;102:1917-23.
86. Nieto FJ, Adam E, Sorlie P i wsp. Cohort study of cytomegalovirus infection as a risk factor for carotid intimal-medial thickening, a measure of subclinical atherosclerosis. *Circulation* 1996;94:922-7.
87. Nieto FJ, Folsom AR, Sorlie PD, Grayston JT, Wang SP, Chambless LE. Chlamydia pneumoniae infection and incident coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Am J Epidemiol* 1999;150:149-56.

88. Palmieri V, Celentano A, Roman MJ i wsp. Fibrinogen and preclinical echocardiographic target organ damage: the strong heart study. *Hypertension* 2001;38:1068-74.
89. Panichi V, Migliori M, De Pietro S i wsp. C-reactive protein and interleukin-6 levels are related to renal function in predialytic chronic renal failure. *Nephron* 2002;91:594-600.
90. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW i wsp. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003;107:499-511.
91. Petrie JC, O'Brien ET, Littler WA, de Swiet M. Recommendations on blood pressure measurement. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1986;293:611-5.
92. Pitiriga VC, Kotsis VT, Alexandrou MK, i wsp. Essential hypertension is associated with *Chlamydia pneumoniae* but not Epstein-Barr antibodies. *Am J Hypertens* 2002;15:924-6.
93. Pockley AG, de Faire U, Kiessling R, i wsp. Circulating heat shock protein and heat shock protein antibody levels in established hypertension. *J Hypertens* 2002;20:1815-20.
94. Pockley AG, Wu R, Lemne C, i wsp. Circulating heat shock protein 60 is associated with early cardiovascular disease. *Hypertension* 2000;36:303-7.
95. Program D. Program Pol-MONICA Warszawa. Czesc V: Podstawowe Wyniki Trzeciego Badania Przekrojowego Przeprowadzonego w 1993 r Oraz 10-Letnie Trendy Poziomu Czynniki Ryzyka Populacji

96. Przymusiński J, Kruk M, Deptuch T. Eur Heart J 1999;20 (Abstract suppl):425.
97. Rajzer M, Kawecka-Jaszcz K. Podatność Tętnic w Nadciśnieniu Tętnicznym. Od Patofizjologii Do Znaczenia Klinicznego. Nadciśnienie Tętnicze 2002;61-73.
98. Ridker PM, Buring JE, Cook NR, Rifai N. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14 719 initially healthy American women. Circulation 2003;107:391-7.
99. Ridker PM, Buring JE, Shih J, i wsp. Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women. Circulation 1998;98:731-3.
100. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, i wsp. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. N Engl J Med 1997;336:973-9.
101. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, i wsp. Plasma concentration of C-reactive protein and risk of developing peripheral vascular disease. Circulation 1998;97:425-8.
102. Ridker PM, Haughey P. Prospective studies of C-reactive protein as a risk factor for cardiovascular disease. J Investig Med 1998;46:391-5.
103. Ridker PM, Kundsin RB, Stampfer MJ, i wsp. Prospective study of Chlamydia pneumoniae IgG seropositivity and risks of future myocardial infarction. Circulation 1999;99:1161-4.

104. Ridker PM, Rifai N, Rose L, i wsp. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med* 2002;347:1557-65.
105. Rodel J, Woytas M, Groh A i wsp. Production of basic fibroblast growth factor and interleukin 6 by human smooth muscle cells following infection with *Chlamydia pneumoniae*. *Infect Immun* 2000;68:3635-41.
106. Rohde LE, Hennekens CH, Ridker PM. Survey of C-reactive protein and cardiovascular risk factors in apparently healthy men. *Am J Cardiol* 1999;84:1018-22.
107. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-26.
108. Rupprecht HJ, Blankenberg S, Bickel C i wsp. Impact of viral and bacterial infectious burden on long-term prognosis in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001;104:25-31.
109. Rywik S, Sznajd J, Williams OD i wsp. Poland and US collaborative study on cardiovascular epidemiology. I. Introduction and baseline findings. *Am J Epidemiol* 1989;130:431-45.
110. Sahn DJ, DeMaria A, Kisslo J, Weyman A. Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. *Circulation* 1978;58:1072-83.
111. Saikku P. Epidemiology of *Chlamydia pneumoniae* in atherosclerosis. *Am Heart J* 1999;138:S500-S503.
112. Saikku P, Leinonen M, Mattila K i wsp. Serological evidence of an association of a novel *Chlamydia*, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. *Lancet* 1988;2:983-6.

113. Saikku P, Leinonen M, Tenkanen L i wsp. Chronic Chlamydia pneumoniae infection as a risk factor for coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. *Ann Intern Med* 1992;116:273-8.
114. Sander D, Winbeck K, Klingelhofer J, i wsp. Enhanced progression of early carotid atherosclerosis is related to Chlamydia pneumoniae (Taiwan acute respiratory) seropositivity. *Circulation* 2001;103:1390-5.
115. Sander D, Winbeck K, Klingelhofer J, i wsp. Reduced progression of early carotid atherosclerosis after antibiotic treatment and Chlamydia pneumoniae seropositivity. *Circulation* 2002;106:2428-33.
116. Schett G, Xu Q, Amberger A i wsp. Autoantibodies against heat shock protein 60 mediate endothelial cytotoxicity. *J Clin Invest* 1995;96:2569-77.
117. Schillaci G, Pasqualini L, Verdecchia P i wsp. Prognostic significance of left ventricular diastolic dysfunction in essential hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:2005-11.
118. Schmidt C, Hulthe J, Wikstrand J i wsp. Chlamydia pneumoniae seropositivity is associated with carotid artery intima-media thickness. *Stroke* 2000;31:1526-31.
119. Sechi LA, Zingaro L, Catena C, i wsp. Relationship of fibrinogen levels and hemostatic abnormalities with organ damage in hypertension. *Hypertension* 2000;36:978-85.
120. Shulman NB, Ford CE, Hall WD i wsp. Prognostic value of serum creatinine and effect of treatment of hypertension on renal function. Results from the hypertension detection and follow-up program. The Hypertension Detection and Follow-up Program Cooperative Group. *Hypertension* 1989;13:I80-I93.

121. Siedel J, Hagele EO, Ziegenhorn J, Wahlefeld AW. Reagent for the enzymatic determination of serum total cholesterol with improved lipolytic efficiency. *Clin Chem* 1983;29:1075-80.
122. Sinisalo J, Paronen J, Mattila KJ i wsp. Relation of inflammation to vascular function in patients with coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2000;149:403-11.
123. Sitzer M, Markus HS, Mendall MA, i wsp. C-reactive protein and carotid intimal medial thickness in a community population. *J Cardiovasc Risk* 2002;9:97-103.
124. Slama M, Susic D, Varagic J, Frohlich ED. Diastolic dysfunction in hypertension. *Curr Opin Cardiol* 2002;17:368-73.
125. Smith U, Gudbjornsdottir S, Landin K. Hypertension as a metabolic disorder--an overview. *J Intern Med Suppl* 1991;735:1-7.
126. Sorlie PD, Adam E, Melnick SL i wsp. Cytomegalovirus/herpesvirus and carotid atherosclerosis: the ARIC Study. *J Med Virol* 1994;42:33-7.
127. Staessen JA, Bieniaszewski L, O'Brien ET, Fagard R. Special feature: what is a normal blood pressure in ambulatory monitoring? *Nephrol Dial Transplant* 1996;11:241-5.
128. Stone AF, Mendall MA, Kaski JC i wsp. Effect of treatment for *Chlamydia pneumoniae* and *Helicobacter pylori* on markers of inflammation and cardiac events in patients with acute coronary syndromes: South Thames Trial of Antibiotics in Myocardial Infarction and Unstable Angina (STAMINA). *Circulation* 2002;106:1219-23.
129. Stone MC, Thorp JM. Plasma fibrinogen--a major coronary risk factor. *J R Coll Gen Pract* 1985;35:565-9.

130. Strandberg TE, Tilvis RS. C-reactive protein, cardiovascular risk factors, and mortality in a prospective study in the elderly. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1057-60.
131. Stuveling EM, Hillege HL, Bakker SJ, i wsp. C-reactive protein is associated with renal function abnormalities in a non-diabetic population. *Kidney Int* 2003;63:654-61.
132. Sznajderman M, Kawecka-Jaszcz K, Rynkiewicz A., i wsp. Grupa Robocza Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego. 24-Godzinne Monitorowanie Ciśnienia Tętniczego – Stan Obecny i Perspektywy. *Pol Arch Med Wewn* 1993;251.
133. Tataru MC, Heinrich J, Junker R i wsp. C-reactive protein and the severity of atherosclerosis in myocardial infarction patients with stable angina pectoris. *Eur Heart J* 2000;21:1000-8.
134. Torgano G, Cosentini R, Mandelli C i wsp. Treatment of *Helicobacter pylori* and *Chlamydia pneumoniae* infections decreases fibrinogen plasma level in patients with ischemic heart disease. *Circulation* 1999;99:1555-9.
135. Toss H, Gnarpe J, Gnarpe H, i wsp. Increased fibrinogen levels are associated with persistent *Chlamydia pneumoniae* infection in unstable coronary artery disease. *Eur Heart J* 1998;19:570-7.
136. Virok D, Kis Z, Karai L i wsp. *Chlamydia pneumoniae* in atherosclerotic middle cerebral artery. *Stroke* 2001;32:1973-6.
137. Wahlfed AW. Triglycerides Determination After Enzymatic Hydrolysis. W: *Methods of Enzymatic Analysis*. Ed. H.U. Bergmeyer 2nd Ed. Vol. I-IV. Verlag Chemie Weinheim and Academic Press, Inc New York and London 1980;1831-1834.

138. Ward ME. The immunobiology and immunopathology of chlamydial infections. *APMIS* 1995;103:769-96.
139. Weis M, von Scheidt W. Cardiac allograft vasculopathy: a review. *Circulation* 1997;96:2069-77.
140. Whelton PK, He J, Pernerger TV, Klag MJ. Kidney damage in 'benign' essential hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1997;6:177-83.
141. Whincup PH, Mendall MA, Perry IJ i wsp. Prospective relations between *Helicobacter pylori* infection, coronary heart disease, and stroke in middle aged men. *Heart* 1996;75:568-72.
142. Wilhelmsen L, Svardsudd K, Korsan-Bengtson K, i wsp. Fibrinogen as a risk factor for stroke and myocardial infarction. *N Engl J Med* 1984;311:501-5.
143. Wimmer ML, Sandmann-Strupp R, Saikku P, Haberl RL. Association of chlamydial infection with cerebrovascular disease. *Stroke* 1996;27:2207-10.
144. Winbeck K, Kukla C, Poppert H, Klingelhofer J, i wsp. Elevated C-reactive protein is associated with an increased intima to media thickness of the common carotid artery. *Cerebrovasc Dis* 2002;13:57-63.
145. World, H. World Health Organisation, International Society of Hypertension, Guidelines for Management of Hypertension. *J.Hypertens.* 17, 151-183. 1999.
146. Xu Q, Kiechl S, Mayr M i wsp. Association of serum antibodies to heat-shock protein 65 with carotid atherosclerosis : clinical significance determined in a follow-up study. *Circulation* 1999;100:1169-74.

147. Xu Q, Kleindienst R, Schett G i wsp. Regression of arteriosclerotic lesions induced by immunization with heat shock protein 65-containing material in normocholesterolemic, but not hypercholesterolemic, rabbits. *Atherosclerosis* 1996;123:145-55.
148. Xu Q, Li DG, Holbrook NJ, Udelsman R. Acute hypertension induces heat-shock protein 70 gene expression in rat aorta. *Circulation* 1995;92:1223-9.
149. Xu Q, Schett G, Perschinka H i wsp. Serum soluble heat shock protein 60 is elevated in subjects with atherosclerosis in a general population. *Circulation* 2000;102:14-20.
150. Xu Q, Willeit J, Marosi M i wsp. Association of serum antibodies to heat-shock protein 65 with carotid atherosclerosis. *Lancet* 1993;341:255-9.
151. Yudkin JS, Kumari M, Humphries SE, Mohamed-Ali V. Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? *Atherosclerosis* 2000;148:209-14.
152. Yudkin JS, Stehouwer CD, Emeis JJ, Coppack SW. 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* 1999;19:972-8.
153. Zanchetti A, Bond MG, Hennig M i wsp. Risk factors associated with alterations in carotid intima-media thickness in hypertension: baseline data from the European Lacidipine Study on Atherosclerosis. *J Hypertens* 1998;16:949-61.
154. Zdrojewski T. Nadciśnienie Tętnicze w Polsce. *Terapia* 2002;124:4-7.

155. Zebrack JS, Anderson JL, Maycock CA, i wsp. Usefulness of high-sensitivity C-reactive protein in predicting long-term risk of death or acute myocardial infarction in patients with unstable or stable angina pectoris or acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2002;89:145-9.
156. Zhu J, Nieto FJ, Horne BD, i wsp. Prospective study of pathogen burden and risk of myocardial infarction or death. *Circulation* 2001;103:45-51.
157. Zhu J, Quyyumi AA, Norman JE, i wsp. Cytomegalovirus in the pathogenesis of atherosclerosis: the role of inflammation as reflected by elevated C-reactive protein levels. *J Am Coll Cardiol* 1999;34:1738-43.
158. Zhu J, Quyyumi AA, Norman JE i wsp. Effects of total pathogen burden on coronary artery disease risk and C-reactive protein levels. *Am J Cardiol* 2000;85:140-6.
159. Zhu J, Quyyumi AA, Rott D i wsp. Antibodies to human heat-shock protein 60 are associated with the presence and severity of coronary artery disease: evidence for an autoimmune component of atherogenesis. *Circulation* 2001;103:1071-5.

