

**UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM
WYDZIAŁ LEKARSKI**

Marcin Cwynar

**WYBRANE POLIMORFIZMY GENÓW
ANGIOTENSINOGENU, ENZYMU KONWERTUJĄCEGO
ANGIOTENSYNĘ I ORAZ RECEPTORA TYPU 1 DLA
ANGIOTENSYNY II, A WŁAŚCIWOŚCI ELASTYCZNE
DUŻYCH NACZYŃ TĘTNICZYCH.**

Rozprawa doktorska

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Tomasz Grodzicki

**Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii
Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego**

Kraków 2005

SPIS TREŚCI

Objaśnienie zastosowanych skrótów.	3
Wprowadzenie.	5
Etiopatogeneza pierwotnego nadciśnienia tętniczego.	5
Budowa i funkcja dużych naczyń tętniczych.	6
Przebudowa ścian dużych naczyń tętniczych.	7
Metody oceny oraz wskaźniki sztywności ścian tętnic.	9
Układ renina-angiotensyna-aldosteron.	14
Wybrane polimorfizmy genetyczne układu RAA.	16
Cele pracy.	18
Hipotezy badawcze.	18
Material i metodyka badania.	19
Material badawczy.	19
Protokół badania.	20
Kwestionariusz.	20
Pomiary antropometryczne.	21
Pomiary ciśnienia tętniczego krwi.	21
24-godzinna rejestracja ciśnienia tętniczego krwi.	21
Analiza fali tętna.	22
Badania laboratoryjne.	25
Oznaczenia polimorfizmów genetycznych.	25
Analiza statystyczna.	27
Wyniki.	29
Charakterystyka badanej populacji.	29
Korelacje parametrów ciśnień tętniczych w badanej populacji.	38
Czynniki wpływające na wartości ciśnień w pomiarze tradycyjnym, w 24-godzinnym zapisie oraz na wskaźniki fali tętna.	39
Częstość występowania alleli i genotypów polimorfizmów G-6A genu AGT, D/I genu ACE i A1166C genu AT1R w badanej populacji.	42
Polimorfizmy G-6A genu, D/I genu i A1166C genu AT1R a parametry ciśnieniowe i usztywnienia ścian dużych tętnic.	44
Polimorfizm D/I genu ACE.	44
Analiza asocjacji.	44
Test nierównowagi transmisji dla zmiennych ciągłych (QTDT – transmission disequilibrium test for quantitative traits).	49

Polimorfizm G-6A genu AGT.	50
Analiza asocjacji.	50
Polimorfizm A1166C genu AT1R.	50
Analiza asocjacji.	50
Ciśnienie tętnicze i sztywność naczyń – rola interakcji czynników środowiskowych, płci i polimorfizmów genetycznych.	51
Zależności pomiędzy czynnikami genetycznymi a dobowym wydalaniem sodu z moczem.	51
Zależności pomiędzy czynnikami genetycznymi a płcią.	55
Zależności pomiędzy polimorfizmami genetycznymi.	55
Podsumowanie uzyskanych wyników.	59
Dyskusja i omówienie wyników.	60
Częstość występowania alleli i genotypów polimorfizmów G-6A genu AGT, D/I genu ACE oraz A1166C genu AT1R w badanej populacji oraz wśród osób z prawidłowym ciśnieniem i z nadciśnieniem tętniczym.	60
Polimorfizmy genetyczne układu RAA a ciśnienie tętnicze i wskaźniki usztynienia ścian tętnic.	62
Polimorfizmy M235T i G-6A genu angiotensynogenu (AGT).	62
Polimorfizm D/I genu konwertazy angiotensyny I (ACE).	64
Polimorfizm A1166C genu receptora AT ₁ dla AG II (AT1R).	66
Wpływ sodu na ciśnienie tętnicze i proces przebudowy naczyniowej.	67
Związek pomiędzy układem RAA a zawartością sodu w diecie oraz ich wpływ na ciśnienie tętnicze i usztynienie ścian tętnic.	69
Zależności pomiędzy polimorfizmami genetycznymi układu RAA.	73
Wnioski.	75
Streszczenie pracy.	76
Summary.	80
Spis tabel.	84
Spis rycin.	85
Piśmiennictwo.	86

Objaśnienie zastosowanych skrótów

ABPM – *ambulatory blood pressure monitoring* – 24-godzinne monitorowanie ciśnienia tętniczego krwi

ACE – enzym konwertujący angiotensynę I

AG – wzmocnienie fali aortalnej

AGT – angiotensynogen

AG I – angiotensyna I

AG II – angiotensyna II

AIx_a – wskaźnik wzmocnienia fali w aorcie wstępującej

AIx_c – wskaźnik wzmocnienia fali w tętnicy szyjnej wspólnej

AIx_o – obwodowy wskaźnik wzmocnienia fali

A1166C – transwersja adeniny na cytozynę w pozycji 1166 genu receptora typu 1 dla angiotensyny II

AT1R – receptor typu 1 dla angiotensyny II

BMI – *body mass index* – wskaźnik masy ciała

CTK rozk – rozkurczowe ciśnienie tętnicze krwi na tętnicy ramieniowej

CTK rozk_a – rozkurczowe ciśnienie tętnicze krwi w aorcie wstępującej

CTK rozk₂₄ – 24-godzinne rozkurczowe ciśnienie tętnicze krwi

CTK sk – skurczowe ciśnienie tętnicze krwi na tętnicy ramieniowej

CTK sk_a – skurczowe ciśnienie tętnicze krwi w aorcie wstępującej

CTK sk₂₄ – 24-godzinne skurczowe ciśnienie tętnicze krwi

CTK śr – średnie ciśnienie tętnicze krwi

CTK tętna – ciśnienie tętna na tętnicy ramieniowej

CTK tętna_a – ciśnienie tętna w aorcie wstępującej

CTK tętna_c – ciśnienie tętna w tętnicy szyjnej wspólnej

CTK tętna₂₄ – 24-godzinne ciśnienie tętna

D/I – polimorfizm delecyjno/insercyjny genu enzymu konwertującego angiotensynę I

G-6A – transwersja guaniny przez adeninę w regionie promotorowym, 6 nukleotydów od miejsca inicjacji transkrypcji, w allelu 235T polimorfizmu M236T genu angiotensynogenu

IMT – *intima media thickness* – grubość kompleksu błony środkowej i wewnętrznej w tętnicy szyjnej wspólnej

M235T – transwersja metioniny na treoninę w pozycji 235 genu angiotensynogenu

PCR – *polymerase chain reaction* – reakcja łańcuchowa polimerazy

PWV – *pulse wave velocity* – aortalna prędkość fali tętna

RAA – układ renina-angiotensyna-aldosteron

SD – *standard deviation* – odchylenie standardowe

SE – *standard error* – błąd standardowy

SHR – *spontaneously hypertensive rats* – szczury z samoistnym nadciśnieniem tętniczym

TDT – *transmission disequilibrium test* – test nierównowagi transmisji

QTDT – *transmission disequilibrium test for quantitative traits* – test nierównowagi transmisji dla zmiennych ilościowych

Wprowadzenie

Etiopatogeneza pierwotnego nadciśnienia tętniczego

Nadciśnienie tętnicze jest najbardziej rozpowszechnioną chorobą układu krążenia. Pierwotne nadciśnienie tętnicze jest złożonym zespołem klinicznym o niejednorodnej etiopatogenezie, w której udział biorą między innymi uwarunkowania środowiskowe, genetyczne, hormonalne oraz zapalne. Obejmuje ono około 95 % wszystkich wykrytych przypadków nadciśnienia tętniczego.¹⁻³

Ciśnienie tętnicze podlega wpływom wielu czynników, tworzących złożony układ sprzężeń zwrotnych pozostających w stanie dynamicznej równowagi. Jej zachwianie może doprowadzić do wzrostu oporu obwodowego, zwiększenia pojemności minutowej serca lub do przebudowy (remodelingu) naczyń tętniczych, co skutkuje rozwojem nadciśnienia tętniczego.^{4;5}

Jednymi z najistotniejszych elementów predysponujących do ujawnienia się nadciśnienia są pozostające ze sobą w ścisłym związku: obciążenie rodzinne i uwarunkowania środowiskowe.

Niejednorodność etiopatogenezy oraz zróżnicowanie obrazu klinicznego nadciśnienia w dużej mierze uwarunkowane są sumowaniem się efektów działania licznych genów, tzw. genów kandydujących. Obecnie uważa się, iż pierwotne nadciśnienie tętnicze ma podłoże wielogenowe i jest wynikiem skumulowanego oddziaływania większej liczby genów oraz środowiska, a jedynie w rzadkich przypadkach wynika z mutacji w obrębie pojedynczego genu.^{1;2;6-9} Wśród uwarunkowań środowiskowych nadciśnienia wyróżniamy czynniki niemodyfikowalne, do których zaliczmy wiek, płeć i rasę oraz czynniki modyfikowalne, obejmujące nadwagę, małą aktywność fizyczną, długotrwały stres, nadmierne spożycie alkoholu, nadmiar sodu oraz niedobór potasu i wapnia w diecie. Modyfikacja tych ostatnich może zmniejszyć ryzyko rozwoju oraz stopień zaawansowania choroby.^{3;10;11}

W regulacji ciśnienia tętniczego kluczową rolę odgrywa utrzymanie prawidłowej równowagi wodno-elektrolitowej oraz optymalnego napięcia mięśniówki naczyniowej. Regulacja ta podlega kontroli czynników hormonalnych, parakrynych, nerwowych oraz zwrotnym oddziaływaniom międzykomórkowym.¹

Obok centralnego systemu nerwowego, gruczołów dokrewnych oraz dużych naczyń tętniczych i mikrokrążenia, istotną rolę w patofizjologii pierwotnego

nadciśnienia tętniczego odgrywają nerki.¹² Sodobrażliwość ciśnienia tętniczego oznacza jego wzrost pod wpływem sodu dostarczanego do organizmu doustnie bądź parenteralnie, a może ona być skutkiem rzadkich mutacji w obrębie pojedynczego genu, choć częściej jest uwarunkowana mutacjami w zakresie wielu genów. Genetycznie uwarunkowane sodowrażliwe postacie nadciśnienia tętniczego mogą wynikać z mutacji białek cytoszkieletu¹³, przekaźników jonowych¹⁴ lub czynników hormonalnych¹⁵ uczestniczących w gospodarce sodowej, a tym samym w regulacji objętości płynów pozakomórkowych, prowadząc do upośledzenia filtracji kłębuszkowej lub nasilenia cewkowej reabsorpcji sodu. Nadmierne obciążenie sodem, oprócz rozwoju nadciśnienia^{16;17}, skutkuje również usztywnieniem ścian dużych naczyń tętniczych, co oceniane było w modelach zwierzęcych¹⁸ oraz u ludzi.^{19;20}

Budowa i funkcja dużych naczyń tętniczych

Ściana naczyń krwionośnych składa się z trzech zasadniczych warstw: wewnętrznej, środkowej i przydanki. Dwie ostatnie warstwy zawierają komórki mięśni gładkich oraz włókna sprężyste i kolagenowe. W poszczególnych odcinkach układu naczyniowego zmienia się ich wzajemny stosunek ilościowy, wpływając na odmienne własności fizyczne naczyń.

Ściana dużych tętnic cechuje się znaczną ilością włókien elastycznych, dzięki czemu wykazuje ona dużą sprężystość i rozciągliwość. W miarę przesuwania się na obwód, obserwuje się wzrost zawartości komórek mięśni gładkich oraz wyraźny wzrost stosunku grubości ściany naczynia do promienia wewnętrznego. Arteriole dzięki swej silnej warstwie mięśniowej stawiają opór dla przepływu krwi przez naczynia włosowate. Naczynia włosowate zaś, zbudowane z pojedynczej warstwy komórek śródbłonkowych, stanowią barierę pomiędzy krwią a płynem zewnątrzkomórkowym.^{21;22}

Zróznicowanie strukturalne układu naczyniowego warunkuje różnice czynnościowe pomiędzy poszczególnymi jego odcinkami. Główną funkcją aorty, tętnic i tętniczek jest transport odpowiedniej ilości krwi do tkanek, połączony z utrzymaniem zbliżonej wartości średniego ciśnienia perfuzyjnego w kierunku obwodu. Nadzwyczaj ważną funkcją dużych tętnic jest amortyzowanie pulsacyjnego wyrzutu krwi z lewej komory serca. Objętość wyrzutowa lewej komory wywołuje rozszerzenie ściany aorty wstępującej i jej głównych odgałęzień (mechanizm powietrzni), co umożliwia tłumienie oscylacji ciśnienia wynikających z fazowego charakteru wyrzutu krwi z komór.²³⁻²⁵

Składową ciśnieniową fali tętna tworzą dwa nakładające się na siebie komponenty: fala wytwarzana przez serce i przemieszczająca się na obwód oraz fala zwrotna, docierająca do serca wskutek odbicia się fali pierwotnej w naczyniach peryferyjnych. U młodych, zdrowych osób prawidłowa prędkość fali tętna oraz prawidłowe miejsca odbijania się fal na obwodzie, zlokalizowane w początkowych odcinkach naczyń oporowych²², powodują iż fala odbita dociera do serca we wczesnym rozkurczu, zwiększając rozkurczowe ciśnienie aortalne odpowiadające za perfuzję wieńcową.^{26;27}

Wraz z wiekiem oraz pod wpływem dodatkowych czynników dochodzi do przebudowy ścian tętnic.^{24;28} Usztywnienie ścian tętnic prowadzi do przybliżenia miejsc odbicia fal w kierunku serca i zwiększenia prędkości fali tętna (z podwojeniem jej wartości pomiędzy 15 a 70 rokiem życia), co znajduje odbicie we wzroście amplitudy oraz ilości fal odbitych, docierających do serca z obwodu.^{23;27;29;30} Zmiany te skutkują docieraniem fali odbitej do serca w trakcie trwania jego skurczu, co zwiększa ciśnienie skurczowe oraz ciśnienie tętna w aorcie wstępującej i wpływa na związany ze wzrostem obciążenia następczego przerost lewej komory. Ponadto obniżeniu ulega wczesne aortalne ciśnienie rozkurczowe, co upośledza perfuzję w naczyniach wieńcowych oraz sprzyja niedokrwieniu mięśnia serca szczególnie w sytuacji jego przerostu i współistniejących zwężeń tętnic wieńcowych.^{22;24} Zwiększona sztywność naczyń tętnicznych warunkuje więc zarówno wzrost ciśnienia skurczowego, jak i obniżenie ciśnienia rozkurczowego oraz prowadzi do zwiększenia częstości występowania izolowanego nadciśnienia skurczowego, cechującego się wysokim ciśnieniem tętna.³¹

Przebudowa ścian dużych naczyń tętnicznych

Ściana naczyń krwionośnych stanowi aktywny i integralny narząd o własnościach endokrynno-parakrynnych. Przebudowa naczyniowa jest procesem zależnym od interakcji zachodzących pomiędzy lokalnie produkowanymi czynnikami wzrostu i substancjami wazoaktywnymi (obejmującymi między innymi układ renina-angiotensyna-aldosteron), stymulacją hemodynamiczną³², zwiększoną aktywacją układu adrenergicznego³³ oraz obciążeniem genetycznym.³⁴ W procesie przebudowy uczestniczą elementy odpowiedzi zapalno-immunologicznej (migracja leukocytów, monocytów, makrofagów), elementy angiogenezy (migracja i proliferacja komórek mięśni, perycytów, fibroblastów, nadprodukcja białek podścieliska) oraz nasilenie procesów podziału komórek i ich obumierania w wyniku apoptozy.^{35;36}

W procesie remodelingu naczyniowego uczestniczy szereg czynników fizjologicznych i patologicznych, wśród których kluczową rolę odgrywa proces starzenia się organizmu. Dotyczy on całego łożyska naczyniowego, lecz najsilniej wyrażony jest w tętnicach elastycznych.^{5,29} Do innych czynników, mogących odgrywać rolę w rozwoju przebudowy naczyniowej zaliczamy między innymi: płeć³⁷, wskaźniki antropometryczne (wzrost³⁸ i wagę ciała³⁹), czynniki etniczne⁴⁰, czynniki dietetyczne (w tym nadmierne spożycie soli)²⁰, palenie tytoniu⁴¹, ciśnienie tętnicze krwi⁴, częstość akcji serca⁴², zaburzenia metaboliczne (hipercholesterolemię⁴³, hiperhomocysteinemię⁴⁴ i cukrzycę⁴⁵), zaburzenia funkcji nerek⁴⁶ oraz polimorfizmy genetyczne genów kandydatów nadciśnienia.⁸

W dużych tętnicach przebudowa ściany naczyniowej przebiega początkowo pod postacią zmian adaptacyjnych do nowych warunków hemodynamicznych, a następnie prowadzi do jej usztywnienia z wczesnym rozwojem blaszek miażdżycowych i następowym spadkiem podatności i rozszerzalności. Poszerzenie światła tętnic elastycznych (aorta, tętnice szyjne, tętnice biodrowe) dominuje nad pogrubieniem ich ściany. Średni wewnętrzny promień aorty wstępującej, mierzony w okresie skurczu, wzrasta u ludzi w wieku 20-60 lat o około 9 % w ciągu dekady życia, co częściowo kompensuje zmniejszenie jej podatności, jednak zgodnie z prawem Laplace'a prowadzi do wzrostu napięcia w ścianie. Tętnice typu mięśniowego czynnie reagują na proces rozwoju nadciśnienia i nie ulegają mechanicznemu poszerzeniu w reakcji na podwyższone ciśnienie rozciągania. Procesem dominującym jest tu pogrubienie ich ściany, stąd stosunek grubości ściany do światła naczynia różni się pomiędzy dużymi a mniejszymi tętnicami.^{47,48}

Wzrost sztywności ścian naczyń tętniczych jest procesem zaburzającym przede wszystkim funkcję powietrzni, co doprowadza do zwiększenia pracy serca (na skutek wzrostu wartości ciśnienia skurczowego) oraz spadku perfuzji rozkurczowej mięśnia sercowego. Nie prowadzi on natomiast do upośledzenia funkcji przewodzącej naczyń. Usztywnienie naczyń jest procesem rozlanym, pierwotnie zlokalizowanym w obrębie błony środkowej.

Miażdżyca jest przykładem choroby uszkadzającej głównie funkcję przewodową dużych tętnic. Poprzez zwężenie światła naczynia dochodzi do upośledzenia ukrwienia, a w dalszej kolejności do zawałów niedokrwienych docelowych narządów i tkanek. Jest to proces ogniskowy, okluzyjny, umiejscowiony pierwotnie w obrębie błony wewnętrznej naczyń.²⁴

Metody oceny oraz wskaźniki sztywności ścian tętnic

W populacjach krajów wysoko rozwiniętych zmiany degeneracyjne ścian dużych naczyń tętniczych, polegające na wzroście ich sztywności oraz rozwoju blaszek miażdżycowych, są głównym czynnikiem zachorowalności oraz śmiertelności w przebiegu chorób sercowo-naczyniowych, obejmujących zawał serca, udar mózgu i krwotoki śródczaszkowe, tworzenie i pęknięcie tętniaków, niewydolność lewej komory oraz niewydolność nerek.^{5;24;27}

W celu uzyskania informacji o strukturze i funkcji dużych naczyń tętniczych powszechnie wykorzystuje się wiele nieinwazyjnych metod badawczych.⁵

Ciśnienie tętna

Spośród wskaźników usztywnienia ścian naczyń tętniczych parametrem najłatwiejszym do zmierzenia jest ciśnienie tętna. Stanowi ono konsekwencję okresowego wyrzutu krwi z komory serca a także zdolności aorty i dużych tętnic do minimalizowania pulsacyjności przepływu krwi. Ciśnienie tętna podlega modyfikacji pomiędzy centralnymi a peryferyjnymi tętnicami. Modyfikacja ta polega na wzroście jego wartości w kierunku obwodowym, co wiąże się ze wzrastającą peryferyjnie sztywnością ścian tętnic, wynikającą z obniżania zawartości elementów elastycznych w ich ścianach oraz ze stopniowego zmniejszania się ich poprzecznego przekroju.^{4;5} W badaniu Kellego i wsp., przeprowadzonym w grupie zdrowych ludzi, wzrost wartości ciśnienia tętna pomiędzy aortą a tętnicą ramienną wynosił 18-31 %, a pomiędzy aortą a tętnicą promieniową sięgał 46 %.²⁹ Również w badaniu przeprowadzonym przez Paucę i wsp., przy zastosowaniu inwazyjnej metody pomiaru parametrów hemodynamicznych wykazano, iż u osób wieku 48-77 lat z prawidłowymi wartościami ciśnień tętniczych, ciśnienie rejestrowane pomiędzy tętnicą promieniową a aortą wzrasta w przybliżeniu o 12 mmHg dla wartości ciśnienia skurczowego, a spada o około 1 mmHg dla ciśnienia rozkurczowego i o około 0.8 mmHg dla wartości ciśnienia średniego.⁴⁹

Wskutek procesu przebudowy, upośledzającego funkcję powietrzni dużych tętnic, wartość ciśnienia tętna w centralnych i obwodowych naczyniach stopniowo zbliża się do siebie.^{23;24} W badaniach Kelly'ego i wsp. wykazano wzrost amplitudy fali tętna w tętnicy szyjnej o 91.3 % (pomiędzy pierwszą a ósmą dekadą życia) w stosunku do 67.5 % wzrostu amplitudy fali w tętnicy promieniowej i do 50.1 % wzrostu w tętnicy udowej.²⁹ Większy wzrost wartości ciśnienia tętna w stosunku do wzrostu wartości

ciśnienia średniego z wiekiem tłumaczy kluczową rolę dużych tętnic w patogenezie izolowanego nadciśnienia skurczowego.

Liczne badania wykazały, iż ciśnienie tętna uzyskane podczas pomiarów konwencjonalną sfigmomanometrią⁵⁰⁻⁵², jak również w 24-godzinnym monitorowaniu ciśnienia (ABPM)^{53;54}, jest niezależnym czynnikiem prognostycznym zachorowalności oraz śmiertelności sercowo-naczyniowej. W najnowszym badaniu de Simone i wsp. posunęli się o krok dalej sugerując, iż podwyższone ciśnienie tętna uzyskane metodą sfigmomanometryczną, jest raczej markerem przedklinicznej choroby wieńcowej niż sercowo-naczyniowym czynnikiem ryzyka.⁵⁵

Analiza fali tętna

Chwilowe, zgodne ze skurczami serca miejscowe rozciągnięcie ściany tętnicy z towarzyszącym wzrostem ciśnienia nosi nazwę tętna. Stosowane od czasów Galena badanie 'pulsu' jest najprostszym, ale jednocześnie najtrudniejszym w interpretacji, sposobem oceny sztywności naczyń. Toteż w ciągu wieków starano się ocenę tętna zobiektywizować. Prekursorem sfigmografii był profesor uniwersytetu w Padwie, burmistrz Poznania i lekarz nadworny Zygmunta Augusta - Józef Struś (Struthius), który badał puls m. in. obserwując drganie liścia umieszczonego nad badaną tętnicą. Graficzny zapis tętna (sfigmogram), zapoczątkowany w XIX wieku przez Marey'a, był następnie udoskonalany przez wprowadzenie nowych czujników piezo-, fotoelektrycznych, pojemnościowych i rezonansowych.⁵⁶ Podstawy teoretyczne sfigmografii stworzone zostały w XIX stuleciu przez Mahomeda, który zwrócił uwagę na odmienność kształtów fal tętna w tętnicy promieniowej i szyjnej, wpływ wieku i podwyższonego ciśnienia tętniczego na ukształtowanie fal tętna oraz opisał różnice w zapisach uzyskanych u chorych z pierwotnym nadciśnieniem i z niewydolnością nerek. Odmienności te zostały wyjaśnione przez McDonalda obecnością docierających z obwodu fal odbitych. Uznanie arteriogramu za miarodajny wskaźnik zmian naczyniowych stało się możliwe, gdy wykazano, że zewnętrzny zapis tętna dobrze koreluje z zapisem ciśnieniowym uzyskanym z wnętrza aorty. Wynik wstępnych prac nad morfologicznymi zmianami arteriogramów tętnicy szyjnej w różnych stanach chorobowych przedstawił przed około pięćdziesięcioma latami Donzelot i wsp. W latach sześćdziesiątych XX wieku Chlebus wprowadził do analizy zapisu tętna szereg parametrów matematycznych umożliwiających bardziej obiektywną jego ocenę. Problemem było jednak ciągle otrzymanie dokładnego i powtarzalnego zapisu. Urządzenie, pozwalające na uzyskiwanie kształtu obwodowej fali tętna bez

zniekształceń, zostało skonstruowane przez MacKenzie'go. Na jego podstawie Drzewiecki i Millar opracowali zasady tonometrii aplanacyjnej i skonstruowali rejestrator, dający dokładne i powtarzalne wykresy tętna obwodowego, które po opracowaniu komputerowym i włączeniu do analizy wartości ciśnienia skurczowego i rozkurczowego uzyskanych w pomiarze nieinwazyjnym, służą do odtworzenia kształtu tętna aortalnego i wyliczenia wielu wskaźników.^{4;31;56} Kształt centralnej fali tętna jest bowiem źródłem szeregu informacji dotyczących własności elastycznych naczyń tętniczych, podatności ścian oraz fal odbitych, a ponadto może służyć do uzyskania wskaźników odzwierciedlających czynność skurczową lewej komory i opisujących interakcje sercowo-naczyniowe.⁵⁷

Analiza centralnej fali tętna (sfigmokardiografia) jest nowoczesną, nieinwazyjną metodą uzyskiwania fali tętna w aorcie wstępującej wraz z parametrami ciśnieniowymi, usztywnienia naczyń oraz interakcji sercowo-naczyniowych, przy zastosowaniu techniki tonometrii aplanacyjnej.^{4;31}

Tonometria aplanacyjna (manometria ze spłaszczeniem) jest metodą rejestracji kształtu obwodowej, ciśnieniowej fali tętna w dużych, powierzchownych naczyniach tętniczych. Do oceny fali tętna po raz pierwszy została ona zastosowana przez Pressmana i Naugarda w 1963 roku. Rejestracji fal tętna dokonuje się za pomocą opracowanego przez Huntley'a Millara jednoelementowego czujnika ciśnieniowego, wbudowanego w sondę w kształcie ołówka. Obudowa powoduje, że niewielka powierzchnia odbiorcza czujnika (0.5 x 1.0 mm, z częstotliwością odbioru > 2 kHz) zwiększa się do 7 mm średnicy, co ułatwia utrzymanie kontaktu ze skórą, znajdującą się nad badanym naczyniem tętniczym. Podczas badania, siła nacisku stosowanego do uzyskania właściwego spłaszczenia naczynia, powinna być równa ciśnieniu wewnątrz-naczyniowemu. Dzięki temu wektor ciśnienia jest przekazywany do powierzchni odbiorczej bez zniekształceń, wywołanych przez napięcie okrężne spłaszczonej ściany naczynia, a następnie przekształcany jest przez przetwornik w sygnał elektryczny, umożliwiającą rejestrację kształtu ciśnieniowej fali tętna.^{4;29;58;59}

W dalszej części badania kształty fal tętna, zarejestrowane na tętnicach promieniowych bądź szyjnych wspólnych, po wykalibrowaniu o wartości ciśnień skurczowego i rozkurczowego uzyskanych konwencjonalną sfigmomanometrią na tętnicy ramieniowej, są przekształcane przy zastosowaniu matematycznej funkcji przejścia w fale ciśnieniowe w aorcie wstępującej. Po uśrednieniu uzyskanych zapisów otrzymujemy wykres składowej ciśnieniowej fali tętna wraz z parametrami opisującymi jej własności elastyczne.^{4;60;61}

Analiza centralnej fali tętna dostarcza szeregu wskaźników ciśnieniowych oraz usztywnienia ścian tętnic. Oprócz techniki sfigmokardiograficznej, wielu badaczy uzyskiwało parametry centralne fali tętna przy zastosowaniu techniki tonometrii aplanacyjnej na tętnicy szyjnej wspólnej^{26;62-64}, gdyż wartości uzyskane tam są zbliżone do otrzymywanych w aorcie.^{23;62}

Parametry ciśnieniowe otrzymywane podczas badań tonometrycznych, obejmują wartości ciśnienia skurczowego, rozkurczowego, średniego oraz ciśnienia tętna. W badaniu Wilkinsona i wsp. przeprowadzonym w grupie osób z hipercholesterolemią w porównaniu z osobami z prawidłowymi parametrami lipidogramu wykazano, iż wartości ciśnienia tętna w aorcie (CTK tętna_a) były istotnie wyższe w grupie z zaburzeniami lipidowymi, podczas gdy wartości ciśnień tętna na tętnicy ramiennej (CTK tętna) pomiędzy grupami nie różniły się istotnie.⁶⁵ Natomiast w badaniu przeprowadzonym w grupie osób normotensyjnych oraz ze świeżo rozpoznany nadciśnieniem tętniczym wykazano, iż ciśnienie tętna rejestrowane na tętnicy szyjnej wspólnej (CTK tętna_c), było silnym i niezależnym predyktorem ($p < 0.0001$) przebudowy ściany naczynia (ocenianej jako grubość kompleksu błona środkowa-błona wewnętrzna- IMT), podczas gdy dla CTK tętna powyższa zależność nie osiągnęła znamienności statystycznej.⁶² Wartości ciśnień tętna oceniano również w grupach pacjentów z chorobą wieńcową oraz schyłkową niewydolnością nerek. W grupie pacjentów z chorobą niedokrwinną serca, po wystandaryzowaniu o czynniki zakłócające, CTK tętna_c okazało się być wykładnikiem stopnia zaawansowania choroby niedokrwiennej serca, podczas gdy dla CTK tętna nie obserwowano opisywanej zależności.⁶⁶ U pacjentów z niewydolnością nerek wykazano natomiast, iż CTK tętna_c oraz osłabienie amplifikacji ciśnienia tętna w kierunku obwodowym, są silniejszymi wskaźnikami śmiertelności w badanej grupie niż CTK tętna.²⁶

Głównymi parametrami usztywnienia ścian naczyń uzyskiwanymi podczas analizy fali tętna są: wzmocnienie fali aortalnej oraz centralny i obwodowy wskaźnik wzmocnienia fali aortalnej.

Wzmocnienie fali aortalnej (*Augmentation*- AG, mmHg) określa względny wzrost lub spadek wartości ciśnienia późno-skurczowego w aorcie wstępującej pod wpływem fal odbitych docierających z obwodu. Wraz z wiekiem oraz na skutek

usztynienia ścian dużych naczyń i przyspieszenia prędkości fal tętna, fale odbite docierają do serca wcześniej, co wiąże się ze wzrostem wartości AG.^{4;31}

Wskaźnik wzmocnienia fali aortalnej (*Augmentation Index- AIx_a*, %) wyliczany jest jako iloraz wzmocnienia fali aortalnej i ciśnienia tętna w aorcie. Jego wartość odzwierciedla procentowy wzrost lub spadek wysokości fali tętna (czyli ciśnienia tętna w aorcie), w wyniku docierania do serca fal odbitych z obwodu.

Wskaźnik wzmocnienia fali obwodowej (*Augmentation Index- AIx_o*, %) wyliczany jest jako iloraz pomiędzy późnym a wczesnym szczytem skurczowym na ramieniu wstępującym promieniowej fali ciśnieniowej i odzwierciedla procentowy wzrost ciśnienia skurczowego w tętnicy promieniowej, wynikający z obecności fal odbitych.

Przeprowadzane badania potwierdziły przydatność AIx w ocenie przebudowy ścian tętnic. Badanie Kellego i wsp., z zastosowaniem tonometrii aplanacyjnej u osób w wieku od 2 do 91 lat, wykazało wzrost wraz z wiekiem wartości AIx w tętnicy szyjnej wspólnej (AIx_c) od 1.6 % w pierwszej dekadzie życia, poprzez 16.5 % w piątej, do 24.1 % w dekadzie ósmej.²⁹ W dalszych badaniach, przeprowadzonych w grupach osób normotensyjnych⁶⁴, u normotensyjnych mężczyzn⁶⁷ oraz w grupie osób z nadciśnieniem tętniczym⁶³, uzyskano podobną zależność pomiędzy wiekiem a AIx_c^{63;64} i AIx_a.⁶⁷ Wyżej wymienieni badacze oceniali ponadto związek pomiędzy AIx_c bądź AIx_a, a innymi, szeroko udokumentowanymi wskaźnikami remodelingu naczyniowego.

W badaniu Saby i wsp. oceniano zależność pomiędzy AIx_c a grubością ściany tętnicy szyjnej wspólnej. Osoby zakwalifikowane do badania zostały podzielone na dwie grupy w oparciu o dodatnią lub ujemną wartość AIx_c. W grupie z dodatnią wartością AIx_c wykazano znamienne statystycznie ($p < 0.01$) większą grubość ściany tętnicy, w porównaniu do grupy z ujemną wartością AIx_c, jednakże po wystandaryzowaniu do wieku, płci oraz średniego ciśnienia tętniczego zależność ta osłabła.⁶⁴ Podobnie w badaniu przeprowadzonym wśród japońskich pacjentów z nadciśnieniem tętniczym, znamienne korelacja ($r = 0.28$, $p = 0.018$) pomiędzy grubością kompleksu IMT w tętnicy szyjnej wspólnej a AIx_c osłabła po wystandaryzowaniu.⁶³ W dalszych badaniach Kelly i wsp., w grupie zdrowych mężczyzn, badali korelację pomiędzy AIx_a a aortalną prędkością fali tętna (PWV). Pomimo wcześniejszych doniesień, potwierdzających niezależną od wieku, płci, ciśnień tętniczych oraz wzrostu znamienne korelację pomiędzy AIx_a a PWV⁶⁸, uzyskali oni odmienne wyniki. W badaniu obserwowano

ponadto istotny wpływ zastosowanych parenteralnie angiotensyny II oraz nitrogliceryny na AIX_a przy niewielkim wpływie na PWV.⁶⁷ Powyższe badania sugerują, iż AIX odzwierciedla raczej intensywność fal odbitych niż elastyczność ścian dużych tętnic.

W ostatnich latach ukazały się doniesienia, opisujące zwiększenie wartości AIX_a u pacjentów z cukrzycą typu 1⁶⁹, hipercholesterolemią⁶⁵ oraz wraz ze wzrostem ryzyka zachorowalności i śmiertelności sercowo-naczyniowej i całkowitej u pacjentów z chorobą wieńcową.⁷⁰ W najnowszym badaniu, przeprowadzonym w grupie 297 osób, analizowano związek AG i AIX_a z ryzykiem powikłań sercowo-naczyniowych (ocenianym jako epizod niestabilnej duszniczy bolesnej, zawału serca, udaru mózgu oraz śmierci z przyczyn sercowo-naczyniowych) oraz ze śmiertelnością z przyczyn ogólnych. W badaniu wykazano, iż po wystandaryzowaniu o czynniki ryzyka choroby wieńcowej, AG (p=0.002) i AIX_a (p=0.003) były silnie związane z ryzykiem sercowo-naczyniowym. Okazało się również, iż AG było mocniejszym niż AIX_a wskaźnikiem śmiertelności z przyczyn ogólnych w grupie pacjentów z chorobą niedokrwienną serca.⁷¹

W innych badaniach wykazano, iż u pacjentów przewlekle dializowanych z powodu krańcowej niewydolności nerek, nawet w podgrupie z prawidłowo elastyczną aortą ocenianą przy użyciu PWV, AIX_c jest niezależnym czynnikiem śmiertelności sercowo-naczyniowej oraz ogólnej⁷², a u chorych z chorobą wieńcową silnie koreluje (p<0.0001) z ryzykiem powikłań sercowo-naczyniowych.⁷⁰

Układ renina-angiotensyna-aldosteron

Angiotensyna II (AG II) oraz aldosteron, będące hormonami efektorowymi układu RAA, odgrywają istotną rolę w regulacji gospodarki wodno-elektrolitowej, modulacji aktywności układu sympatycznego, w patogenezie nadciśnienia tętniczego oraz w procesie remodelingu serca i dużych naczyń tętniczych.^{73;74} W ostatnim czasie stwierdzono - oprócz krążących we krwi składowych układu RAA - istnienie lokalnych, działających parakrynnie i autokrynnie, tkankowych układów renina-angiotensyna, działających między innymi w sercu, naczyniach krwionośnych, nerkach, nadnerczach oraz mózgu.^{75;76} Odpowiedniki te mogą być regulowane niezależnie od układu krążącego.⁷⁷ Uważa się, iż systemowy układ RAA odgrywa rolę w krótkoterminowej regulacji czynności układu sercowo-naczyniowego, natomiast miejscowy układ RAA uczestniczy raczej w regulacji długoterminowej.⁷⁸

W 1898 roku Tiserstedt i jego współpracownik Bergmann stwierdzili, że dożylny wlew homogenatu nerki powoduje wzrost ciśnienia tętniczego u królików. Na podstawie tej prostej obserwacji wysunęli przypuszczenie istnienia substancji endokrynnej, którą nazwali reniną.⁷⁹ Następny krok zrobił Goldblatt, który wykazał, że jednostronne zaciśnięcie tętnicy nerkowej wywołuje nadciśnienie. Renina jest enzymem powstającym w komórkach epitelialnych aparatu przykłębuszkowego nerek początkowo jako prorenina, a następnie pod wpływem kallikreiny jako renina ostateczna. Jej działanie polega na rozszczepianiu angiotensynogenu (AGT), glikoproteidu frakcji α_2 -globulinowej osocza do dekapeptydu angiotensyny I (AG I). Stężenie AGT we krwi u poszczególnych osób nie podlega dużym wahaniom, a jego wydzielanie pozostaje pod stałym wpływem glikokortykosteroidów, estrogenów, hormonów tarczycy oraz AG II.⁸⁰ Enzym konwertujący angiotensynę I (ACE), będący karboksylazą dipeptydową, powstaje głównie w śródbłonku naczyniowym płuc. Bierze on udział w przekształcaniu AG I w oktapeptyd angiotensynę (1-8), zwany AG II oraz angiotensyny (2-10) w angiotensynę III (2-8). ACE uczestniczy również w metabolizmie bradykininy, substancji P, neurokinin i LHRH. W niektórych narządach AG II powstaje również niezależnie od ACE, z udziałem proteaz takich jak: katepsyna G, CAGE, t-PA, elastaza oraz chymaza.

Zidentyfikowano dwa podstawowe typy receptorów dla AG II- receptor AT_1 oraz AT_2 . Pewne doniesienia wskazują również na obecność genu kodującego receptor pobudzany zarówno przez AG II, jak i przez wazopresynę (ANG/AVP receptor). Przewiduje się występowanie także innych dwóch typów receptora, tzn.: receptora AT_3 i AT_4 . Receptory AT_1 występują w mózgu, ścianach układu krążenia, w wątrobie, płucach i nerkach. Receptory AT_2 występują natomiast w ścianach układu krążenia, w niektórych obszarach mózgu i w nadnerczach. Stymulacja receptorów AT_1 odpowiada za niekorzystne działanie AG II, natomiast pobudzenie receptorów AT_2 wywiera działanie antagonistyczne do pobudzenia receptorów AT_1 .^{73;81}

Zakres działania AG II, zależny od pobudzenia receptora typu 1, obejmuje:

- wazokonstrykcję (skutkującą wzrostem ciśnienia skurczowo-rozkurczowego krwi) oraz wzrost uwalniania endoteliny;
- pobudzenie pozazwojowych neuronów współczulnych i uwalnianie z nich noradrenaliny oraz zwiększenie uwalniania adrenaliny z rdzenia nadnerczy;
- pobudzenie mózgu za pośrednictwem narządów okołokomorowych, w kierunku wzmożonego wydzielania wazopresyny i wzrostu pragnienia;
- pobudzenie kory nadnerczy do zwiększonego uwalniania aldosteronu;

- wzrost cewkowej reabsorpcji sodu, hamowanie uwalniania reniny oraz uwalnianie prostaglandyn;
- bezpośredni destrukcyjny wpływ na komórki śródbłonka, proliferację i migrację komórek mięśni gładkich oraz fibroblastów, upośledzenie procesu apoptozy komórek oraz aktywację monocytów i makrofagów, co prowadzi do aktywacji procesów troficznych i plastycznych skutkujących przebudową mięśnia serca oraz ścian naczyń;
- sprzyjanie agregacji i adhezji płytek krwi oraz niekorzystne modulowanie układu fibrynolizy poprzez stymulację syntezy inhibitorów aktywatora plazminogenu typu I i II w komórkach mięśni gładkich i śródbłonka.^{73;81;82}

Wybrane polimorfizmy genetyczne układu RAA

W ostatnich latach ukazały się wyniki szeregu badań dotyczących związku genów kandydatów z ciśnieniem tętniczym krwi.

W licznych badaniach szczególne zainteresowanie wzbudza powiązanie polimorfizmów genów kodujących AGT, ACE oraz receptor AT₁ dla AG II z predyspozycją do rozwoju nadciśnienia, zmian narządowych i chorób sercowo-naczyniowych oraz ze skutecznością ich prewencji i leczenia.^{8;83}

Locus genu AGT - MIM 106150 znajduje się w na chromosomie 1 (1q42-3).⁸⁴ Dotychczas zidentyfikowano szereg mutacji genu AGT, zlokalizowanych głównie w obrębie eksonu 2 genu. Większość z nich jest rzadka, a ich występowanie stwierdzono jedynie u kilku osób z nadciśnieniem tętniczym.⁹

Jeunemaitre i wsp. po raz pierwszy opisali dwa polimorfizmy genu AGT u rodzeństw z Francji oraz ze stanu Utah w USA, wskazując na szczególne znaczenie mutacji punktowych w pozycji 521 (cytozyna – tymina) i 704 (tymina – cytozyna) genu AGT, skutkujących zamianą treoniny metioniną w pozycji 174 (T174M) i metioniny treoniną w pozycji 235 (M235T), w predyspozycji do rozwoju nadciśnienia tętniczego.⁸⁵ W późniejszych badaniach stwierdzono, że polimorfizm M235T jest ściśle sprzężony z inną mutacją genu AGT, w której w allelu T adenina zastępuje guaninę (G-6A) w miejscu poprzedzającym inicjację transkrypcji.⁸⁶ Badaniom poddano również kolejne polimorfizmy genu AGT – C-18T, A-20C oraz C-532T, oceniając ich związek z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym.⁸⁷⁻⁸⁹ Jednakże w związku z brakiem jednoznacznych i powtarzalnych wyników uzyskanych w analizach pojedynczych polimorfizmów genetycznych, aktualnie na plan pierwszy wysuwają się analizy

łączonego wpływu poszczególnych polimorfizmów genu AGT (haplotypów) na parametry ciśnieniowe i proces przebudowy.⁸⁹

Jednym z kluczowych elementów układu RAA jest ACE. Synteza ACE zachodzi w wyniku transkrypcji zlokalizowanego na chromosomie 17 (17q23) genu MIM 106180, który składa się z 26 eksonów i 25 intronów.⁸⁴ W obrębie intronu 16 opisano polimorfizm typu delekcja/insercja (D/I), polegający na braku (allel D) lub obecności (allel I) sekwencji 287 par zasad.⁹⁰

Główny nacisk w badaniach nad wpływem genu ACE na predyspozycję do rozwoju pierwotnego nadciśnienia tętniczego i chorób sercowo-naczyniowych został położony na polimorfizm D/I. Jednoznacznie stwierdzono, iż wyżej wymieniony polimorfizm wiąże się z osoczym oraz tkankowym stężeniem ACE^{75;76}, odpowiadając w przybliżeniu za 47 % całkowitej zmienności ACE w osoczu.⁹⁰

Pomimo, iż w aspekcie związku z predyspozycją do rozwoju nadciśnienia tętniczego, powikłań narządowych nadciśnienia oraz chorób sercowo-naczyniowych jest on jednym z najdokładniej przebadanych polimorfizmów genetycznych, wciąż niezbyt liczne są badania analizujące łączny wpływ opisywanego polimorfizmu z innymi polimorfizmami genetycznymi, a jedynie pojedyncze prace dotyczą interakcji polimorfizmu D/I z czynnikami środowiskowymi, np. z zawartością sodu w diecie, mogącymi w istotny sposób modyfikować jego genetyczną ekspresję.⁸

Gen receptora AT₁ (MIM 106165) znajduje się na chromosomie 3 (q21-q25).⁸⁴ Wśród licznych polimorfizmów genu AT1R, mogących mieć związek z rozwojem nadciśnienia tętniczego⁹¹, największą rolę przypisuje się polimorfizmowi A1166C, opisanemu przez Bonnardeaux i wsp., a polegającemu na transwersji adeniny na cytozynę w pozycji 1166 genu.⁹²

Rola polimorfizmu A1166C genu AT1R jako czynnika ryzyka rozwoju nadciśnienia i chorób układu krążenia pozostaje nadal nie do końca wyjaśniona, co znajduje potwierdzenie w rozbieżnych wynikach dostępnych badań.⁹³

Cele pracy

1. Określenie częstości występowania alleli i genotypów polimorfizmów G-6A genu AGT, D/I genu ACE oraz A1166C genu AT1R w populacji rodzin regionu krakowskiego.
2. Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów analizowanych polimorfizmów u osób z prawidłowym ciśnieniem i z nadciśnieniem tętniczym.
3. Ustalenie związku polimorfizmów G-6A genu AGT, D/I genu ACE i A1166C genu AT1R z wartościami ciśnień tętniczych oraz z parametrami usztywnienia ścian dużych tętnic, w oparciu o analizę asocjacji oraz analizę rodzin.
4. Ocena zależności pomiędzy czynnikami genetycznymi, czynnikiem środowiskowym (wyrażonym poprzez zawartość sodu w diecie) i płcią oraz analiza ich łącznego wpływu na parametry ciśnieniowe i przebudowy ścian dużych tętnic.

Hipotezy badawcze

1. Analizowane polimorfizmy genetyczne układu RAA mogą mieć związek z predyspozycją do rozwoju nadciśnienia tętniczego oraz z procesem przebudowy ścian naczyń tętniczych.
2. Pomędzy ocenianymi polimorfizmami genetycznymi, lecz również pomiędzy poszczególnymi polimorfizmami a zawartością sodu w diecie bądź płcią, mogą istnieć wzajemne interakcje wpływające na parametry ciśnieniowe oraz przebudowę ścian tętnic.

Material i metodyka badania

Praca została zrealizowana w ramach Polsko-Flamandzkiego Badania Populacyjnego, dotyczącego wpływu wybranych genów na własności elastyczne ścian dużych naczyń tętnicznych – *A Polish-Flemish population study on the role of candidate genes in the determination on the wall characteristics of the central arteries*. Osoby zakwalifikowane do badania uczestniczyły w europejskim projekcie badawczym, dotyczącym uwarunkowań genetycznych nadciśnienia tętniczego – *European Project on Genes in Hypertension (EPOGH)*, prowadzonym także w Belgii, Bułgarii, Czechach, Rosji, Rumunii i we Włoszech.⁹⁴⁻⁹⁹

Material badawczy

Do badania zrekrutowano rodziny dwupokoleniowe (nuklearne), składające się z obojga lub tylko jednego z rodziców oraz z co najmniej dwóch potomków. Dla wszystkich podlegających badaniu członków rodziny przyjęto przedział wiekowy od 18 do 60 roku życia. Źródłem rekrutacji badanych osób była populacja regionu miasta i gminy Niepołomice. Badaniem zostało objętych 206 osób (120 kobiet i 86 mężczyzn), tworzących strukturę 55 rodzin, liczących 89 rodziców i 117 potomków.

Rodziny z populacji ogólnej wyłonione zostały na drodze losowej. Losowania dokonano na podstawie aktualnych list wyborców, metodą warstwową, proporcjonalną, gdzie warstwy stanowiło dziesięć okręgów wyborczych na terenie miasta i gminy Niepołomice. Szczegółowe informacje o charakterze i celu badania oraz warunkach uczestnictwa w badaniu przekazano drogą listowną do wybranych losowo osób. W kolejnym etapie, po uzyskaniu wstępnej zgody na udział w programie, w grupie osób z odpowiadającą założeniom programu strukturą rodziny, ustalano termin wizyty informacyjnej. Wylosowano 500 osób, spośród których kontakt był możliwy z 464 osobami. Odpowiadającą warunkom badania strukturę rodziny stwierdzono u 101 rodzin. Zgodę na udział w badaniu od wszystkich członków rodziny uzyskano dla 55 rodzin (54.5 %).

W ramach Polsko-Flamandzkiego Badania Populacyjnego badaniom naczyniowym poddano 190 osób (52 rodziny). Z analizy statystycznej wykluczono 5 osób: 2 osoby ze źle technicznie wykonanymi pomiarami elastyczności ścian tętnic, 2 osoby wskutek niezgodności mendlowskiej w zakresie co najmniej jednego z badanych genotypów oraz 1 osobę w związku z brakiem oznaczenia ocenianych genotypów. Analizą objęto więc grupę 185 osób (89.8 %), należących do 52 rodzin.

Z dalszych analiz, przeprowadzonych z uwzględnieniem parametrów uzyskanych podczas 24-godzinnej zbiórki moczu, wykluczono kolejne 4 osoby, wskutek nie przeprowadzenia u nich dobowej zbiórki moczu. Liczba osób ujętych w analizach dotyczących 24-godzinnej zbiórki moczu wyniosła 181.

Protokół badania

Każdy z uczestników otrzymał informację o schemacie badania, udzielił pisemnej zgody na uczestnictwo w programie oraz odrębnej zgody na udział w badaniu genetycznym.

Protokół badania został zatwierdzony przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Jagiellońskiego (decyzja nr KBET/9/B/2001).

Kwestionariusz

Wszyscy badani członkowie rodzin otrzymali do wypełnienia standardowy kwestionariusz epidemiologiczny, składający się z 35 pytań. Pytania kwestionariusza dotyczyły następujących zagadnień:

- a/ pozycji socjoekonomicznej i rodzaju wykonywanej pracy;
- b/ stylu życia i zachowań zdrowotnych (palenie tytoniu, picie alkoholu, picie kawy, aktywność fizyczna w ciągu dnia oraz poziom stresu);
- c/ występowanie nadciśnienia tętniczego (z podaniem daty rozpoznania choroby) oraz aktualnych i/lub przebytych chorób układu krążenia, układu moczowego bądź występowania cukrzycy;
- d/ stosowania leków obniżających ciśnienie tętnicze i innych preparatów;
- e/ obciążenia rodzinnego nadciśnieniem tętniczym.

Dodatkowo, u kobiet uzyskano wywiad ginekologiczny dotyczący menopauzy, ciąży i porodów oraz w zakresie stosowania leków zawierających hormony płciowe.

Dla każdego uczestnika badania na podstawie danych z kwestionariusza określono dzienny poziom wysiłku fizycznego, wyrażony jako zużycie energii (kcal) przy wykonywaniu pracy zawodowej i/lub sportów.

Przy użyciu kwestionariusza, dla każdego z badanych obliczono dzienne spożycie etanolu. Spożywanie alkoholu definiowano jako regularne, jeżeli dzienne spożycie było równe lub przekraczało 5 g czystego etanolu. Za regularnych palaczy tytoniu uznano osoby, które wypalały co najmniej jednego papierosa dziennie.

Pomiary antropometryczne

Badanie fizykalne poszerzono o pomiary antropometryczne. Zmierzone ciężar ciała i wzrost posłużyły do wyliczenia wskaźnika masy ciała (Body Mass Index – BMI).

Pomiary ciśnienia tętniczego krwi

Pomiarów ciśnienia tętniczego dokonano sfigmomanometrem rtęciowym, zgodnie z wytycznymi *Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego*.¹⁰⁰ Standardowych pomiarów ciśnienia dokonywano pięciokrotnie podczas jednej wizyty domowej, w pozycji siedzącej, po co najmniej 5 minutowym odpoczynku. W trakcie wizyty dokonano wyboru kończyny po uprzednim zbadaniu ciśnienia na obu ramionach. Standardowo pomiarów dokonywano w zakresie kończyny nie dominującej, jednakże w przypadku stwierdzenia różnicy ciśnień 10 mmHg i powyżej pomiędzy ramionami, pomiarów dokonywano na kończynie charakteryzującej się wyższymi wartościami ciśnienia.

Wartości ciśnienia tętniczego w pomiarach tradycyjnych obliczono jako średnią z 5 pomiarów uzyskanych w warunkach domowych. Ciśnienie tętna wyliczono jako różnicę średniego ciśnienia skurczowego i rozkurczowego, natomiast średnie ciśnienie tętnicze jako sumę średniego ciśnienia rozkurczowego i 1/3 ciśnienia tętna.

Nadciśnienie tętnicze rozpoznawano w oparciu o dane z kwestionariusza, uzupełnione wywiadem lekarskim oraz w oparciu o domowe pomiary ciśnienia. Nadciśnienie tętnicze stwierdzono, jeżeli wartość ciśnienia tętniczego w pomiarach tradycyjnych była ≥ 140 mmHg dla ciśnienia skurczowego lub ≥ 90 mmHg dla ciśnienia rozkurczowego i/lub jeżeli pacjent otrzymywał leki hipotensyjne.

Na podstawie badania fizykalnego oraz wywiadu lekarskiego i przeprowadzonych badań laboratoryjnych oraz ewentualnie badań obrazowych, u wszystkich uczestników programu wykluczono wtórny charakter nadciśnienia tętniczego.

24-godzinna rejestracja ciśnienia tętniczego krwi

Całodobowe automatyczne monitorowanie ciśnienia tętniczego krwi (*Ambulatory Blood Pressure Monitoring – ABPM*) wykonano z zastosowaniem aparatu SpaceLabs 90207 (Redmond, WA, USA). Pomiary ciśnienia i tętna były odnotowywane co 15 minut w ciągu dnia (od 8.00 do 22.00) i co 30 minut w nocy (od 22.00 do 8.00) przez 25 godzin, w celu wykluczenia z analiz rejestracji w ciągu pierwszej godziny. Położenie mankietu weryfikowano poprzez porównanie wyników pomiaru

automatycznego i poprzedzającego go pomiaru sfigmomanometrycznego (różnica nie przekraczająca 5 mmHg).

Na podstawie uzyskanych zapisów uzyskano uśrednione wartości ciśnienia skurczowego i rozkurczowego, średniego ciśnienia tętniczego oraz ciśnienia tętna w okresie całej doby.

Analiza fali tętna

Pomiarów własności elastycznych ścian dużych naczyń tętniczych dokonano w warunkach domowych, po 15 minutach odpoczynku badanego w pozycji siedzącej, przy zastosowaniu modułu Pulse Wave Analysis (PWA) wchodzącego w skład aparatury SphygmoCor, wersja 6.31 (AtCor Medical Pty. Ltd., West Ryde, Nowa Południowa Walia, Australia).^{4;31;101}

Zapisy kształtów fal tętna zostały przeprowadzone w okresie 8-sekundowym, przy zastosowaniu techniki tonometrii aplanacyjnej. Pomiarów dokonywano na tętnicy promieniowej dominującej kończyny górnej przy użyciu jednoelementowego czujnika ciśnieniowego SPC-301 (Millar Instruments, Inc., Houston, Teksas, USA).^{4;31;58}

Dane osobowe pacjenta, wzrost i wagę ciała oraz zmierzone bezpośrednio przed pomiarem, przy zastosowaniu konwencjonalnej sfigmomanometrii wartości skurczowego i rozkurczowego ciśnienia krwi, wprowadzono do pamięci komputera wchodzącego w skład urządzenia SphygmoCor. Ciśnienia skurczowe i rozkurczowe posłużyły do kalibracji fal tętna na tętnicy promieniowej.

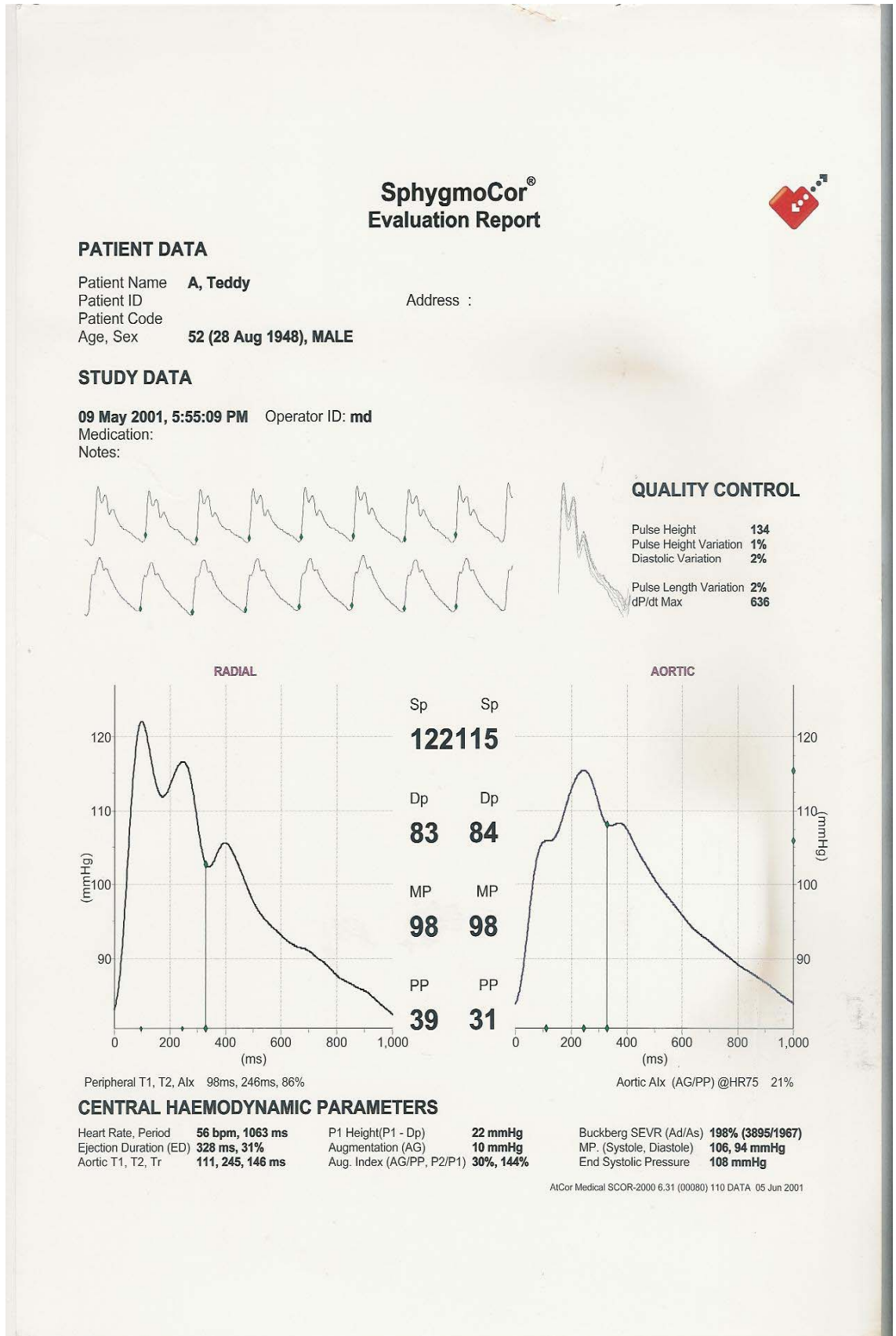
Po uzyskaniu powtarzalnych kształtów fal tętna otrzymywano wzmocnienie ich zapisów na ekranie monitora. Uruchomienie procedury pomiarowej rozpoczynało zapis następujących po sobie kształtów fal tętna na tętnicy promieniowej, na podstawie których - przy zastosowaniu matematycznej funkcji przejścia, zostały wyprowadzane kształty fal tętna w aortalnej tętnicy. Po uśrednieniu uzyskanych zapisów fal tętna otrzymano pojedyncze kształty obwodowej i ośrodkowej fali wraz z parametrami opisującymi własności elastyczne dużych naczyń, funkcję lewej komory mięśnia serca i interakcje sercowo-naczyniowe oraz częstość pracy serca. Dane uzyskane w trakcie tych pomiarów przedstawiono w sposób liczbowy oraz graficzny (Rycina 1).^{4;31;60;61;94;99;101}

Spśród wskaźników otrzymanych podczas badania, w analizach statystycznych uwzględniono wartości centralnych parametrów ciśnieniowych: ciśnienie skurczowe (CTK sk_a), rozkurczowe (CTK rozk_a) i ciśnienie tętna (CTK tętna_a) oraz parametry usztywnienia naczyń: wzmocnienie fali aortalnej (AG) oraz wskaźniki aortalnego

(AIx_a) i obwodowego (AIx_o) wzmocnienia fali. AG (mmHg) wyliczone zostało jako różnica pomiędzy późnym a wczesnym szczytem skurczowym na ramieniu wstępującym aortalnej fali tętna. AIx_a (%) wyliczono jako iloraz wzmocnienia fali aortalnej i ciśnienia tętna w aorcie, natomiast AIx_o (%) jako iloraz pomiędzy późnym a wczesnym szczytem skurczowym na ramieniu wstępującym promieniowej fali ciśnieniowej.

Urządzenie SphygmoCor posiada ponadto wbudowaną funkcję kontrolującą prawidłowość i powtarzalność uzyskiwanych zapisów. Za nieprawidłowe uznano uśrednione zapisy fal tętna, wśród których różnica wysokości i szerokości skurczowych i rozkurczowych części fal przekraczała 5 %, bądź gdzie amplituda sygnału fali była mniejsza niż 80 mV.^{94;99;101} Spośród 4 poprawnych zapisów uzyskanych u każdego badanego do analiz statystycznych zakwalifikowano zapis o najlepszych współczynnikach powtarzalności.

Rycina 1. Uzyskane podczas pomiarów urządzeniem SphygmoCor kształty fal tętna na tętnicy promieniowej i w aorcie wstępującej, wraz z parametrami ciśnieniowymi i usztywnienia ścian tętnic.



Badania laboratoryjne

W badanej populacji oznaczono poziom glukozy i lipidów (cholesterol całkowity, triglicerydy, cholesterol LDL oraz cholesterol HDL) na czczo w surowicy krwi oraz dokonano oceny aktywności reninowej osocza. Na podstawie 24-godzinnej zbiórki moczu określono przeciętne dobowe wydalanie sodu, potasu, kreatyniny oraz aldosteronu z moczem. W oparciu o poziom sodu i potasu wyliczono dobowy stosunek sodu do potasu w moczem. W badaniu Lufta i wsp. wykazano, iż w grupie osób, dobowe wydalanie sodu z moczem w sposób adekwatny odzwierciedla ilość sodu przyjmowanego w diecie.¹⁰²

W badanej grupie dokonano także oznaczeń grupy krwi w układzie ABO i Rh oraz sprawdzono zgodność genotypów polimorfizmów G-6A genu AGT, D/I genu ACE oraz A1166C genu AT1R pomiędzy rodzicami a dziećmi, zakładając dziedziczenie mendlowskie, celem wykluczenia z analiz dzieci wychowywanych przez osoby nie będące ich biologicznymi rodzicami.

Oznaczenia polimorfizmów genetycznych

Badania genetyczne wykonano w Katedrze Nefrologii, Uniwersytetu Vita e Salute San Raffaele (Mediolan, Włochy), w jednym z ośrodków uczestniczącym w programie EPOGH.

Materiał stanowiła krew obwodowa pobrana na wersanian dwusodowy (EDTA). Izolacji genomowego DNA z krwi obwodowej dokonano metodą enzymatyczną, za pomocą zestawu firmy QIAGEN (QIAamp DNA Blood Mini Kit).

Detekcja mutacji G-6A genu AGT była możliwa dzięki zastosowaniu metody hybrydyzacji ze specyficznymi dla alleli oligonukleotydami, opisaną przez Pallarda i wsp.¹⁰³ Fragmenty genu AGT zawierające zmutowane miejsca zostały poddane amplifikacji przy pomocy łańcuchowej reakcji polimerazy DNA (PCR – *polymerase chain reaction*), z użyciem starterów (starter sensowny:

5'TTCCAGAAGGCACTTTTCAC3' oraz starter antysensowny:

5'TAGTACCCAGAACAACGGCA3'), opisaną wcześniej przez Rigata i wsp.¹⁰⁴

Produkty powstałe podczas PCR zostały następnie poddane denaturacji oraz osuszaniu na nylonowej membranie. W dalszej kolejności membrany poddawano neutralizacji w 2xSSC, łączono krzyżowo z światłem UV, poddawano hybrydyzacji przy obecności dwóch oligonukleotydów (specyficznym dla allelu G-6:

5'ACCCGGCCAGGGGAAGA3' oraz specyficznym dla allelu A-6:

5'TCTTCCCCCGGCCGGGT3') oraz znakowaniu przy użyciu [γ -³²P]dATP. Następnie membrany dwukrotnie płukano w temperaturze pokojowej w 1xSSC oraz inkubowano w 0.5xSSC przed etapem końcowym, autoradiografią.

Badanie polimorfizmu D/I genu ACE wykonano przy użyciu metody PCR. Allele D i I identyfikowano w zależności od obecności w amplifikowanym rejonie genu fragmentu 287 par zasad na podstawie obrazu elektroforetycznego uzyskanych produktów PCR. Ze względu na opisywaną preferencję do amplifikacji krótszych fragmentów (allel D) i związaną z tym możliwością błędnego określenia heterozygoty DI jako homozygoty DD, wszystkie wyniki DD potwierdzono reakcją PCR z parą starterów specyficzną dla allelu I (starter sensowny:

5'TGGGACCACAGCGCCCGGCCACTAC3' oraz starter antysensowny:

5'TCGCCAGCCCTCCCATGCCCATAA3'), zgodnie z metodą opisaną przez Lindpaintnera i wsp.¹⁰⁵ Proces ten przeprowadzono na 2 % żelach agarozowych barwionych bromkiem etydy. Produkty reakcji uwidoczniło w świetle UV.

Badanie polimorfizmu A1166C genu AT1R wykonano za pomocą techniki PCR na podstawie metody opisaną przez Paillarda i wsp.^{103;106} Produkty PCR poddano trawieniu enzymem restrykcyjnym DdeI. Przy obecności allelu 1166C, produkt PCR składający się z 404 par zasad ulegał podziałowi na dwa fragmenty o wielkości 118 i 286 par zasad. Produkty trawienia rozłożono na 1.5 % żelu agarozowym z bromkiem etydy i uwidoczniło w świetle UV. W procesie amplifikacji zastosowano dwa oligonukleotydowe startery: sensowny - 5'-AGAAGCCTGCACCATGTTTTGAG-3' i antysensowny - 5'-CCTGTTGCTCCTCTAACGATTTA-3'.

Analiza statystyczna

Zarządzanie bazą danych i analizy statystyczne prowadzono przy pomocy oprogramowania SAS System, wersja 8.1 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA).

Zgodność rozkładu analizowanych zmiennych ilościowych z rozkładem normalnym sprawdzono za pomocą testu Shapiro-Wilk'a i Kołmagorowa-Smirnova. W przypadku nie spełnienia kryteriów normalności rozkładu, zmienne zostały poddane transformacji logarytmicznej i w tej formie wykorzystane w analizach statystycznych.

W statystyce opisowej dane ilościowe przedstawione zostały jako średnia i odchylenie standardowe (dla danych o rozkładzie normalnym) lub jako średnia geometryczna (dla danych nie spełniających kryteriów normalności rozkładu). Dane jakościowe przedstawiono jako proporcje. Porównania średnich między grupami pokoleniowymi oraz między kobietami i mężczyznami dokonano dla zmiennych ilościowych za pomocą testu t-Studenta, dla zmiennych jakościowych za pomocą testu χ^2 Pearsona bądź testu Fishera, w przypadku małej liczebności grupy.

Zależności pomiędzy dwiema zmiennymi ilościowymi analizowano przy użyciu analizy korelacji Pearsona oraz standaryzowanej analizy korelacji.

W celu wyodrębnienia czynników powiązanych z analizowanymi parametrami ciśnieniowymi oraz usztywnienia ścian tętnic, przeprowadzono analizę wariancji w pomiarach wielokrotnych oraz analizę regresji krokowej. Za wartość progową statystyki F Snedecora (dla wejścia i pozostania w modelu regresji zmiennych) przyjęto wartość p równą 0.1. Zestaw zmiennych proponowanych dla wejścia do modelu regresji dla obwodowych wartości ciśnień zawierał: wiek, płeć, wskaźnik masy ciała, częstość akcji serca, palenie tytoniu (tak/nie), regularne spożywanie alkoholu (tak/nie), poziom cholesterolu całkowitego w surowicy krwi oraz stosowanie leków przeciw nadciśnieniowych, natomiast dla parametrów analizy fali tętna: wiek, płeć, wzrost ciała, częstość akcji serca, średnie ciśnienie tętnicze, palenie tytoniu (tak/nie), regularne spożywanie alkoholu (tak/nie), poziom cholesterolu całkowitego w surowicy krwi, stosowanie leków przeciw nadciśnieniowych oraz osobę wykonującą pomiar.

Zgodność rozkładów analizowanych genotypów z rozkładami przewidywanymi według prawa Hardy-Weinberga potwierdzono przy użyciu testu χ^2 Pearsona.

Wartości średnie pomiędzy genotypami badanych polimorfizmów oceniano przy zastosowaniu testu analizy wariancji w klasyfikacji pojedynczej (ANOVA).

Analizę asocjacji zmiennych z czynnikami genetycznymi przeprowadzono w populacji ogólnej oraz osobno dla każdej z grup pokoleniowych. Wybrane parametry ciśnieniowe oraz usztywnienia ścian naczyń porównywano w zależności od genotypów polimorfizmów G-6A, D/I i A1166C genów AGT, ACE i AT1R przy użyciu analizy wariacji. Następnie w modelu regresji wieloczynnikowej uwzględniono zmienne powiązane, wyznaczając dla trzech grup genotypowych wystandaryzowane wartości średnie oraz standardowy błąd pomiarowy.

W związku ze strukturą analizowanej populacji, składającej się z rodzin oraz z bezpośrednio ze sobą spokrewnionych par rodzeństwa, w kolejnym modelu regresji wieloczynnikowej uwzględniono współczynniki korelacji badanego fenotypu pomiędzy osobami spokrewnionymi (PROC GENMOD oprogramowania SAS).¹⁰⁷ W dalszej części analiz, w modelu regresji wieloczynnikowej (PROC GENMOD), analizowano interakcje pomiędzy czynnikami genetycznymi i środowiskowymi, czynnikami genetycznymi i płcią oraz pomiędzy polimorfizmami genetycznymi, w odniesieniu do parametrów ciśnieniowych oraz usztywnienia ścian tętnic.

Wyniki uzyskane w analizie asocjacji w populacji potomków poddano weryfikacji w teście nierównowagi transmisji (TDT – transmission disequilibrium test) w rozwinięciu i przystosowaniu do oceny zmiennych ciągłych, jak np. ciśnienie tętnicze (QTDT – transmission disequilibrium test for quantitative traits). W teście tym oceniano, czy jeden z alleli analizowanego polimorfizmu nie jest przekazywany osobom chorym częściej niż drugi. Przy zastosowaniu modelu zaproponowanego przez Abecasisa i wsp. (model ortogonalny),¹⁰⁸ analizy przeprowadzono w rodzinach nuklearnych o znanych genotypach potomków i rodziców bądź znanym co najmniej jednym (heterozygotycznym) genotypie rodzica. Zastosowany model uwzględniał ponadto obecność zmiennych powiązanych z analizowanym fenotypem. Transmisję allelu I genu ACE definiowano jako odziedziczenie wybranego allelu po heterozygotycznym rodzicu. Estymator współczynnika regresji na określonym poziomie istotności statystycznej wskazywał na wielkość i kierunek asocjacji dla transmisji analizowanego allelu.

Wyniki

Charakterystyka badanej populacji

Badana populacja objęła 185 osób pochodzących z 52 rodzin i zawierała 82 rodziców (33 ojców, 49 matek) oraz 103 ich potomków (47 synów, 56 córek). Średni wiek rodziców wynosił 51.8 ± 4.9 lat, zaś potomków 26.4 ± 5.0 lat. Współczynnik uczestnictwa w badaniu wyniósł 89.8 %. Dane dotyczące charakterystyki klinicznej oraz czynników stylu życia w badanej populacji, z uwzględnieniem podziału na grupy pokoleniowe i płeć, zestawiono w Tabelach 1, 2, 3 oraz 4.

Rodzice, w porównaniu z pokoleniem potomków, charakteryzowali się istotnie statystycznie niższymi wartościami wzrostu, większymi wartościami wagi oraz wyższymi wartościami wskaźnika masy ciała. W pokoleniu rodziców, w porównaniu do dzieci, częściej stwierdzono występowanie otyłości – BMI $> 30 \text{ kg/m}^2$ (29.3 % vs 2.9 %; $p < 0.0001$) oraz nadwagi – BMI w granicach 25-30 kg/m^2 (45.1 % vs 22.3 %; $p < 0.01$).

Pomiędzy pokoleniami nie stwierdzono istotnie statystycznej różnicy w częstości akcji serca. Pokolenie starsze, w porównaniu do pokolenia młodszego, charakteryzowało się wyższymi wartościami skurczowego (CTK sk) i rozkurczowego (CTK rozk) ciśnienia tętniczego krwi w pomiarach tradycyjnych (średnia z 5 pomiarów: $137.6 \pm 17.0/87.0 \pm 9.6$ vs $122.5 \pm 12.8/76.1 \pm 11.2$ mmHg; $p < 0.0001$). Ciśnienie tętna (CTK tętna) oraz średnie ciśnienie tętnicze (CTK śr) na tętnicy ramiennej były istotnie statystycznie wyższe w pokoleniu rodziców: CTK tętna (50.6 ± 12.2 vs 46.4 ± 10.3 mmHg; $p < 0.01$), CTK śr (103.9 ± 11.2 vs 91.5 ± 10.7 mmHg; $p < 0.0001$).

W pokoleniu rodziców, w porównaniu z dziećmi, stwierdzono wyższy odsetek osób z nadciśnieniem tętniczym (63.4 % vs 16.5 %; $p < 0.0001$), rozpoznany w oparciu o wartości ciśnienia uzyskane z uśrednienia 5 pomiarów CTK metodą sfigmomanometryczną w warunkach domowych bądź stosowanie terapii przeciw nadciśnieniowej. W grupie rodziców z rozpoznany nadciśnieniem tętniczym, w porównaniu z grupą dzieci, więcej osób stosowało leczenie hipotensyjne (30.5 % vs 2.9 %; $p < 0.0001$). Poziom wysiłku fizycznego był w pokoleniu starszym niższy niż w pokoleniu młodszym (Tabela 1).

Pokolenie rodziców, w porównaniu do pokolenia dzieci, charakteryzowało się wyższymi wartościami ciśnienia tętniczego krwi uzyskanymi podczas 24-godzinnego

zapisu ($123.1 \pm 11.6/75.9 \pm 7.7$ vs $117.7 \pm 8.5/68.3 \pm 6.1$ mmHg; $p < 0.001$) oraz niższą wartością 24-godzinnego ciśnienia tętna (47.2 ± 6.1 vs 49.4 ± 5.5 mmHg; $p < 0.05$) (Tabela 2).

Wśród parametrów uzyskanych podczas analizy fali tętna, dokonywanych przy zastosowaniu urządzenia SphygmoCor, pokolenie starsze, w stosunku do pokolenia młodszego, charakteryzowało się istotnie wyższymi wartościami aortalnych parametrów ciśnieniowych: CTK sk_a, CTK rozk_a i CTK tętna_a oraz parametrów usztywnienia naczyń: AG, AIx_o i AIx_a (dla wszystkich parametrów $p < 0.0001$; Tabela 2).

Spośród parametrów biochemicznych krwi rodzice, w porównaniu z pokoleniem potomków, charakteryzowali się wyższymi poziomami glukozy, cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji LDL oraz triglicerydów na czczo (Tabela 2). Zaburzenia lipidowe (hipercholesterolemia- cholesterol całkowity na czczo w surowicy krwi ≥ 5.0 mmol/l oraz hipertriglicydemia- triglicerydy na czczo w surowicy krwi ≥ 1.7 mmol/l¹⁰⁰, obserwowano istotnie częściej u osób z pokolenia starszego (63.4 % vs 28.1 %; $p < 0.0001$) dla hipercholesterolemii oraz (39.0 % vs 12.6 %; $p < 0.0001$) dla hipertriglicydemii.

W pokoleniu rodziców, w porównaniu z pokoleniem dzieci, stwierdzono niższą aktywność reninową osocza (Tabela 2).

W obu pokoleniach mężczyźni, w porównaniu do kobiet, charakteryzowali się wyższymi wartościami wzrostu i wagi ciała oraz więcej spośród nich deklarowało regularne spożycie alkoholu (Tabela 3). Zarówno w pokoleniu starszym, jak i młodszym, wśród kobiet wykazano wyższe wartości parametrów remodelingu naczyniowego: AG, AIx_o i AIx_a (Tabela 4). Spośród parametrów biochemicznych, u kobiet w obu pokoleniach stwierdzono wyższe stężenie cholesterolu frakcji HDL w surowicy krwi oraz niższe dobowe wydalanie sodu, potasu oraz kreatyniny z moczem.

U ojców, w porównaniu do matek, obserwowano większy poziom dobowego wysiłku fizycznego (Tabela 3).

W pokoleniu potomków, synowie wykazywali wyższe wartości CTK sk i CTK śr w pomiarach tradycyjnych (Tabela 3) oraz wyższe wartości dobowego ciśnienia skurczowego (CTK sk_24), rozkurczowego (CTK rozk_24) oraz ciśnienia tętna (CTK tętna_24) niż córki (Tabela 4). Synowie, w porównaniu do córek, charakteryzowali się wyższym poziomem triglicerydów w surowicy krwi. Mężczyźni

z młodszego pokolenia, wykazywali niższą aktywność reninową osocza oraz niższy poziom aldosteronu w dobowej zbiorce moczu, w porównaniu z kobietami tej samej grupy pokoleniowej (Tabela 4).

W pokoleniu potomków 9 (8.7 %) badanych było obciążonych nadciśnieniem tętniczym ze strony obojga rodziców, a 50 (48.5 %) badanych – ze strony tylko jednego z rodziców (Tabela 3).

Ryciny 2 i 3 przedstawiają wartości obwodowych i aortalnych parametrów ciśnieniowych oraz wartości parametrów usztywnienia ścian naczyń w badanej populacji, w grupach wiekowych oraz u kobiet i u mężczyzn.

Tabela 1. Charakterystyka kliniczna i czynniki stylu życia w badanej populacji.Dane przedstawiono jako średnie arytmetyczne \pm SD lub jako ilość osób (odsetek). \ddagger - średnia z 5 pomiarów CTK otrzymanych w trakcie jednej wizyty domowej. P_{pok} – p dla różnicy pomiędzy pokoleniami.

	Rodzice N = 82	P _{pok}	Potomkowie N = 103
<i>Dane kliniczne</i>			
Wiek (lata)	51.8 \pm 4.9	<0.0001	26.4 \pm 5.0
Wzrost ciała (cm)	167.4 \pm 8.2	0.0005	171.9 \pm 8.9
Waga ciała (kg)	79.4 \pm 14.8	<0.0001	68.8 \pm 12.3
Wskaźnik masy ciała (BMI, kg/m ²)	28.3 \pm 4.8	<0.0001	23.2 \pm 3.2
Częstość akcji serca (uderzenia/min)	72.3 \pm 11.0	0.11	75.1 \pm 11.9
CTK skurczowe (mmHg) \ddagger	137.6 \pm 17.0	<0.0001	122.5 \pm 12.8
CTK rozkurczowe (mmHg) \ddagger	87.0 \pm 9.6	<0.0001	76.1 \pm 11.2
CTK średnie (mmHg) \ddagger	103.9 \pm 11.2	<0.0001	91.5 \pm 10.7
CTK tętna (mmHg) \ddagger	50.6 \pm 12.2	0.01	46.4 \pm 10.3
Nadciśnienie tętnicze	52 (63.4 %)	<0.0001	17 (16.5 %)
Obciążenie nadciśnieniem:			
- ze strony obojga rodziców	—	—	9 (8.7 %)
- ze strony jednego z rodziców	—	—	50 (48.5 %)
Leczenie hipotensyjne	25 (30.5 %)	<0.0001	3 (2.9 %)
<i>Czynniki stylu życia</i>			
Palenie tytoniu	26 (31.7 %)	0.15	23 (22.3 %)
Regularne spożycie alkoholu	16 (19.5 %)	0.88	21 (20.4 %)
Wysiętek fizyczny (kcal)	1345.9 \pm 1.6	0.03	1576.8 \pm 1.6

Tabela 2. Wyniki badań specjalistycznych w badanej populacji. Dane przedstawiono jako średnie arytmetyczne \pm SD oraz średnie geometryczne dla zmiennych logarytmowanych. P_{pok} – p dla różnicy pomiędzy pokoleniami.
 \ddagger – liczba osób z 24-godzinną zbiórką moczu wynosiła 181.

	Rodzice N = 82	P_{pok}	Dzieci N = 103
<i>24-godzinne monitorowanie CTK</i>			
CTK skurczowe (mmHg)	123.1 \pm 11.6	0.0003	117.7 \pm 8.5
CTK rozkurczowe (mmHg)	75.9 \pm 7.7	<0.0001	68.3 \pm 6.1
CTK tętna (mmHg)	47.2 \pm 6.1	0.01	49.4 \pm 5.5
<i>Analiza fali tętna</i>			
Aortalne CTK skurczowe (mmHg)	127.6 \pm 16.2	<0.0001	106.4 \pm 13.0
Aortalne CTK rozkurczowe (mmHg)	88.1 \pm 9.3	<0.0001	77.4 \pm 12.3
Aortalne CTK tętna (mmHg)	39.5 \pm 11.8	<0.0001	29.0 \pm 6.7
Wzmocnienie fali aortalnej (mmHg)	11.4 \pm 7.0	<0.0001	1.8 \pm 4.2
Obwodowy wskaźnik wzmocnienia (%)	84.9 \pm 16.2	<0.0001	54.9 \pm 17.5
Aortalny wskaźnik wzmocnienia (%)	27.0 \pm 11.9	<0.0001	5.4 \pm 13.4
<i>Dane biochemiczne</i>			
Aktywność reninowa osocza (ng/l/sek.)	0.19 (0.16-0.24)	<0.0001	0.36 (0.31-0.43)
Poziom glukozy na czczo (mmol/l)	5.0 \pm 1.1	<0.0001	4.6 \pm 0.8
Cholesterol całkowity (mmol/l)	5.5 \pm 1.1	<0.0001	4.5 \pm 1.0
Triglicerydy (mmol/l)	1.7 \pm 1.2	<0.0001	1.0 \pm 0.7
Cholesterol LDL (mmol/l)	3.2 \pm 1.0	<0.0001	2.5 \pm 0.9
Cholesterol HDL (mmol/l)	1.5 \pm 0.4	0.32	1.6 \pm 0.3
Dobowa zbiórka moczu – objętość (l) \ddagger	1.50 \pm 0.48	0.68	1.47 \pm 0.61
Dobowe wydalanie Na ⁺ z moczem (mmol)	247.7 \pm 90.4	0.38	236.5 \pm 78.8
Dobowe wydalanie K ⁺ z moczem (mmol)	66.5 \pm 24.6	0.39	63.5 \pm 23.1
Dobowy stosunek Na ⁺ /K ⁺ w mocz	3.9 \pm 1.2	0.68	4.0 \pm 1.5
Dobowe wydalanie kreatyniny z moczem (mmol)	12.0 \pm 4.2	0.93	12.0 \pm 4.5
Dobowe wydalanie aldosteronu z moczem (nmol)	9.5 (11.0 – 8.1)	0.53	10.1 (11.8 – 8.7)

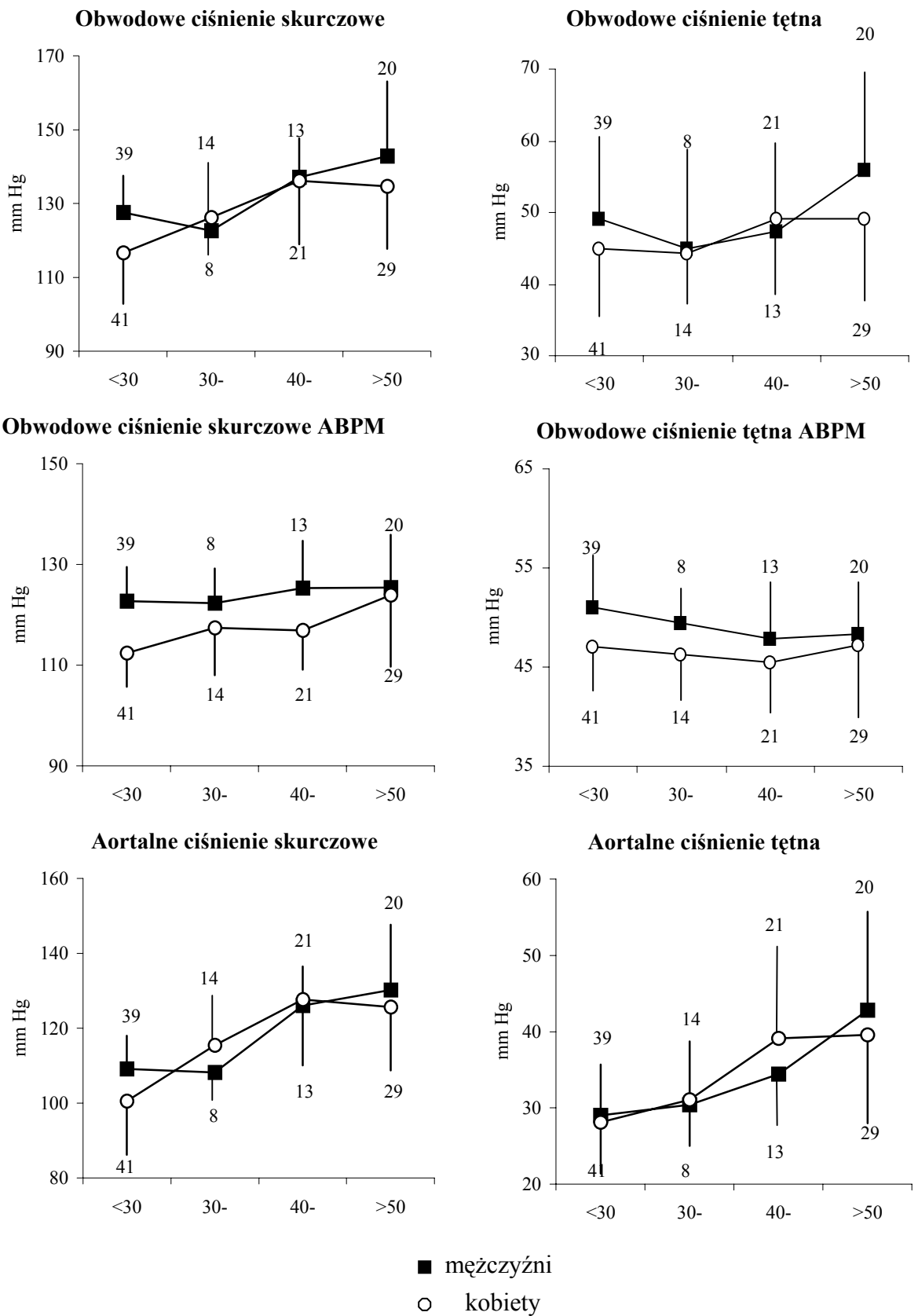
Tabela 3. Charakterystyka kliniczna i czynniki stylu życia w badanej populacji.Dane przedstawiono jako średnie arytmetyczne \pm SD lub jako ilość osób (odsetek).‡- średnia z 5 pomiarów CTK otrzymanych w trakcie jednej wizyty domowej. * $p < 0.05$; † $p < 0.01$; ‡ $p < 0.001$ dla różnicy pomiędzy płciami w obrębie pokolenia. P_{pok} – p dla różnicy pomiędzy pokoleniami.

	Ojcowie N = 33	Matki N = 49	P _{pok}	Synowie N = 47	Córki N = 56
<i>Dane kliniczne</i>					
Wiek (lata)	52.4 \pm 4.3	51.5 \pm 5.3	<0.0001	25.8 \pm 4.2	26.8 \pm 5.6
Wzrost ciała (cm)	175.2 \pm 5.0	162.2 \pm 5.1‡	0.0005	179.2 \pm 6.2	165.8 \pm 5.6‡
Waga ciała (kg)	86.3 \pm 13.5	74.4 \pm 13.9‡	<0.0001	76.2 \pm 10.2	62.7 \pm 10.3‡
Wskaźnik masy ciała (BMI, kg/m ²)	28.1 \pm 4.2	28.4 \pm 5.3	<0.0001	23.7 \pm 2.7	23.7 \pm 3.5
Częstość akcji serca (uderzenia/min)	71.1 \pm 11.8	73.2 \pm 10.4	NS	73.5 \pm 12.7	76.4 \pm 11.0
CTK skurczowe (mmHg)‡	140.5 \pm 17.1	135.7 \pm 16.8	<0.0001	126.7 \pm 9.5	119.0 \pm 14.2†
CTK rozkurczowe (mmHg)‡	88.0 \pm 10.1	86.4 \pm 9.3	<0.0001	78.2 \pm 9.8	74.2 \pm 12.1
CTK średnie (mmHg)‡	105.5 \pm 11.3	102.8 \pm 11.1	<0.0001	94.4 \pm 7.9	89.2 \pm 12.2*
CTK tętna (mmHg)‡	52.6 \pm 12.9	49.3 \pm 11.6	0.01	48.4 \pm 11.8	44.7 \pm 8.7
Nadciśnienie tętnicze	23 (69.7 %)	29 (59.2 %)	<0.0001	9 (19.1 %)	8 (14.3 %)
Obciążenie nadciśnieniem:					
- ze strony obojga rodziców	—	—	—	3 (6.4 %)	6 (10.7 %)
- ze strony jednego z rodziców	—	—	—	26 (55.3 %)	24 (42.9 %)
Leczenie przeciw nadciśnieniowe	11 (33.3 %)	14 (28.6 %)	<0.0001	2 (4.3 %)	1 (1.8 %)
<i>Czynniki stylu życia</i>					
Palenie tytoniu	13 (39.4 %)	13 (26.5 %)	NS	14 (29.8 %)	9 (16.1 %)
Regularne spożycie alkoholu	14 (42.4 %)	2 (4.1 %)‡	NS	21 (44.5 %)	0‡
Wysiłek fizyczny (kcal)	1575.8 \pm 1.6	1210.3 \pm 1.6*	0.03	1707.3 \pm 1.7	1459.5 \pm 1.6

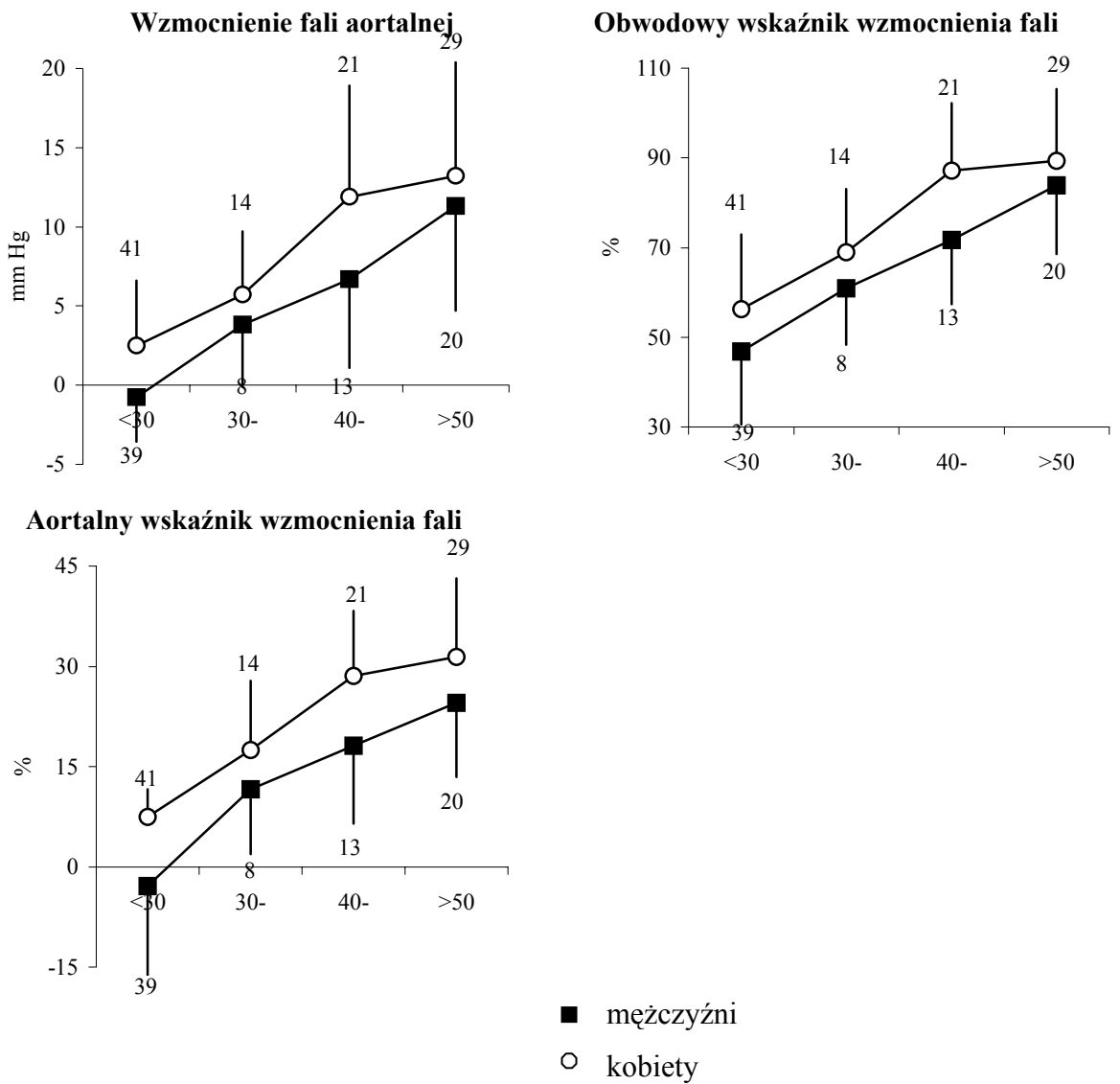
Tabela 4. Wyniki badań specjalistycznych w badanej populacji. Dane przedstawiono jako średnie arytmetyczne \pm SD oraz średnie geometryczne dla zmiennych logarytmowanych; * $p < 0.05$; † $p < 0.01$; ‡ $p < 0.001$ dla różnicy pomiędzy płciami w obrębie pokolenia. P_{pok} – p dla różnicy pomiędzy pokoleniami. n – liczba osób z 24-godzinną zbiórką moczu wynosiła 181.

	Ojcowie N = 33	Matki N = 49	P_{pok}	Synowie N = 47	Córki N = 56
<i>24-godzinne monitorowanie CTK</i>					
CTK skurczowe (mmHg)	125.7 \pm 9.9	121.3 \pm 12.3	0.0003	122.6 \pm 6.7	113.5 \pm 7.6‡
CTK rozkurczowe (mmHg)	77.7 \pm 6.9	74.7 \pm 8.1	<0.0001	70.1 \pm 5.6	66.8 \pm 6.1†
CTK tętna (mmHg)	48.1 \pm 5.3	46.6 \pm 6.5	0.01	52.5 \pm 5.0	46.8 \pm 4.4‡
<i>Analiza fali tętna</i>					
Aortalne CTK skurczowe (mmHg)	128.5 \pm 15.0	127.0 \pm 17.0	<0.0001	108.9 \pm 8.7	104.3 \pm 15.6
Aortalne CTK rozkurczowe (mmHg)	89.0 \pm 8.6	87.4 \pm 9.8	<0.0001	79.7 \pm 11.1	75.4 \pm 13.1
Aortalne CTK tętna (mmHg)	39.5 \pm 11.8	39.6 \pm 11.6	<0.0001	29.2 \pm 6.9	28.9 \pm 6.6
Wzmocnienie fali aortalnej (mmHg)	9.5 \pm 6.6	12.7 \pm 7.1*	<0.0001	0.03 \pm 3.4	3.4 \pm 4.3‡
Obwodowy wskaźnik wzmocnienia (%)	79.1 \pm 16.0	88.8 \pm 15.4†	<0.0001	49.2 \pm 16.5	59.7 \pm 16.9†
Aortalny wskaźnik wzmocnienia (%)	22.0 \pm 11.6	30.4 \pm 11.0†	<0.0001	-0.45 \pm 10.9	10.3 \pm 13.4‡
<i>Dane biochemiczne</i>					
Aktywność reninowa osocza (ng/l/sek.)	0.18 (0.12-0.26)	0.21 (0.16-0.27)	<0.0001	0.30 (0.23-0.39)	0.43 (0.35-0.52)*
Poziom glukozy na czczo (mmol/l)	5.0 \pm 1.1	4.9 \pm 1.1	<0.0001	4.4 \pm 0.8	4.4 \pm 0.8
Cholesterol całkowity (mmol/l)	5.6 \pm 1.1	5.4 \pm 1.1	<0.0001	4.4 \pm 0.8	4.7 \pm 1.1
Triglicerydy (mmol/l)	1.9 \pm 1.2	1.6 \pm 1.2	<0.0001	1.2 \pm 0.8	0.8 \pm 0.5†
Cholesterol LDL (mmol/l)	3.3 \pm 1.1	3.2 \pm 1.0	<0.0001	2.4 \pm 0.8	2.6 \pm 0.9
Cholesterol HDL (mmol/l)	1.4 \pm 0.4	1.6 \pm 0.4*	NS	1.5 \pm 0.3	1.7 \pm 0.3*
Dobowa zbiórka moczu – objętość (l) ^d	1.58 \pm 0.45	1.44 \pm 0.50	NS	1.57 \pm 0.56	1.38 \pm 0.64
Dobowe wydalanie Na ⁺ z moczem (mmol)	299.6 \pm 94.3	211.2 \pm 67.5‡	NS	275.5 \pm 76.9	203.8 \pm 64.7‡
Dobowe wydalanie K ⁺ z moczem (mmol)	77.3 \pm 26.8	59.0 \pm 19.9‡	NS	72.2 \pm 26.6	56.2 \pm 16.8‡
Dobowy stosunek Na ⁺ /K ⁺ w mocz	4.1 \pm 1.3	3.8 \pm 1.1	NS	4.2 \pm 1.5	3.8 \pm 1.4
Dobowe wydalanie kreatyniny z moczem (mmol)	15.6 \pm 3.8	9.5 \pm 2.3‡	NS	15.1 \pm 4.4	9.4 \pm 2.5‡
Dobowe wydalanie aldosteronu z moczem (nmol)	9.1 (11.1 – 7.4)	9.8 (12.1 – 7.9)	NS	8.3 (10.2 – 6.7)	12.0 (14.7 – 9.8)*

Rycina 2. Wartości obwodowych i aortalnych parametrów ciśnieniowych, w grupach wiekowych oraz u kobiet i u mężczyzn.



Rycina 3. Wartości obwodowych i aortalnych parametrów usztywnienia ścian naczyń, w grupach wiekowych oraz u kobiet i u mężczyzn.



Korelacje parametrów ciśnień tętnicznych w badanej populacji

Tabela 5 przedstawia współczynniki korelacji parametrów ciśnieniowych, uzyskane w badanej populacji (185 osób) przy zastosowaniu konwencjonalnej sfigmomanometrii ($p \leq 0.0001$), 24-godzinnego pomiaru CTK ($p \leq 0.0001$) oraz analizy fali tętna ($p \leq 0.03$).

Po wystandaryzowaniu analizowanych parametrów o wiek, płeć oraz wskaźnik masy ciała, współczynniki korelacji zachowały znamienność statystyczną dla wszystkich zależności ($p < 0.0001$).

Tabela 5. Zależności pomiędzy parametrami ciśnieniowymi w badanej populacji.

Fenotypy	Niestandaryzowany		Standaryzowany	
	r	p	r	p
Parametry ciśnieniowe				
CTK sk_a vs CTK sk	0.87	0.0001	0.82	0.0001
CTK sk_a vs CTK sk_24	0.45	0.0001	0.31	0.0001
CTK sk vs CTK sk_24	0.56	0.0001	0.45	0.0001
CTK tętna_a vs CTK tętna	0.76	0.0001	0.80	0.0001
CTK tętna_a vs CTK tętna_24	0.15	0.03	0.32	0.0001
CTK tętna vs CTK tętna_24	0.42	0.0001	0.45	0.0001

Czynniki wpływające na wartości ciśnień w pomiarze tradycyjnym, w 24-godzinnym zapisie oraz na wskaźniki fali tętna

Czynniki determinujące wartości obwodowych ciśnień tętniczych krwi, uzyskanych w tradycyjnym i 24-godzinnym zapisie CTK oraz parametry otrzymane przy zastosowaniu analizy fali tętna ustalono, stosując analizę wariancji w pomiarach wielokrotnych oraz analizę regresji krokowej, pozostawiając w modelu jedynie te zmienne, które osiągnęły poziom istotności statystycznej $p \leq 0.10$.

W modelu regresji krokowej obwodowe parametry ciśnień tętniczych krwi standaryzowano o wiek, płeć, wskaźnik masy ciała, częstość akcji serca, palenie tytoniu, regularne spożywanie alkoholu, poziom cholesterolu całkowitego w surowicy krwi oraz stosowanie leków przeciw nadciśnieniowym.

W badanej populacji, analizując parametry ciśnieniowe uzyskane podczas pomiarów sfigmomanometrem rtęciowym stwierdzono, że CTK sk korelowało dodatnio z wiekiem ($r = 0.27 \pm 0.09$; $p = 0.004$), płcią żeńską ($r = 6.14 \pm 2.00$; $p = 0.002$), BMI ($r = 1.16 \pm 0.25$; $p = 0.0001$), częstością akcji serca ($r = 0.17 \pm 0.09$; $p = 0.06$) oraz ze stosowanym leczeniem przeciw nadciśnieniowym ($r = 8.63 \pm 3.02$; $p = 0.005$). CTK rozk wzrastało wraz z wiekiem ($r = 0.22 \pm 0.06$; $p = 0.0002$), płcią żeńską ($r = 3.09 \pm 1.36$; $p = 0.02$), BMI ($r = 1.13 \pm 0.17$; $p = 0.0001$) oraz częstością akcji serca ($r = 0.22 \pm 0.06$; $p = 0.0002$), natomiast CTK tętna korelowało dodatnio z paleniem tytoniu ($r = 5.71 \pm 1.80$; $p = 0.002$) oraz leczeniem przeciw nadciśnieniowym ($r = 6.99 \pm 2.22$; $p = 0.002$).

Dla parametrów ciśnieniowych, uzyskanych podczas 24-godzinnego monitoringu ciśnienia tętniczego krwi, CTK sk_24 wzrastało wraz z wiekiem ($r = 0.21 \pm 0.10$; $p = 0.07$), płcią żeńską ($r = 5.97 \pm 1.25$; $p = 0.0001$), BMI ($r = 0.39 \pm 0.13$; $p = 0.004$), paleniem tytoniu ($r = 4.11 \pm 1.78$; $p = 0.004$) oraz było wyższe u osób stosujących leczenie przeciw nadciśnieniowe ($r = 10.86 \pm 1.78$; $p = 0.0001$), natomiast CTK rozk_24 korelowało dodatnio z wiekiem ($r = 0.24 \pm 0.04$; $p = 0.0001$), płcią żeńską ($r = 2.85 \pm 0.88$; $p = 0.001$), częstością akcji serca ($r = 0.08 \pm 0.04$; $p = 0.03$), paleniem tytoniu ($r = 2.83 \pm 1.00$; $p = 0.005$) i stosowanym leczeniem przeciw nadciśnieniowym ($r = 6.65 \pm 1.31$; $p = 0.0001$). CTK tętna_24 uzyskane podczas zapisu dobowego korelowało dodatnio z płcią żeńską ($r = 3.62 \pm 0.77$; $p = 0.0001$), BMI ($r = 0.27 \pm 0.10$; $p = 0.0005$) i stosowanym leczeniem przeciw nadciśnieniowym ($r = 5.53 \pm 1.17$; $p = 0.003$), natomiast ujemnie z wiekiem ($r = -0.17 \pm 0.03$; $p = 0.0001$).

Na podstawie otrzymanych wyników, dalsze analizy przeprowadzane dla obwodowych parametrów ciśnieniowych standaryzowano o wiek i płeć badanych osób, BMI, częstość akcji serca, palenie tytoniu oraz stosowane leczenie przeciw nadciśnieniowe.

Aortalne wartości ciśnień tętniczych oraz parametry usztywnienia ścian naczyń uzyskane podczas analizy fali tętna, standaryzowano o wiek, płeć, wzrost ciała, częstość akcji serca, CTK śr, palenie tytoniu, regularne spożywanie alkoholu, poziom cholesterolu całkowitego w surowicy krwi, stosowanie leków przeciw nadciśnieniowych oraz o osobę wykonującą pomiar.

Dla aortalnego CTK sk_a stwierdzono, iż wzrastało ono z wiekiem ($r= 0.22 \pm 0.05$; $p=0.0001$), płcią męską ($r= 2.27 \pm 1.11$; $p=0.04$) oraz CTK śr ($r= 1.18 \pm 0.05$; $p=0.0001$), natomiast ulegało obniżeniu wraz ze wzrostem częstości akcji serca ($r= -0.26 \pm 0.05$; $p=0.0001$). CTK rozk_a korelowało dodatnio z wiekiem ($r= 0.22 \pm 0.05$; $p=0.0001$), płcią męską ($r= 2.27 \pm 1.11$; $p=0.04$) oraz CTK śr ($r= 1.18 \pm 0.05$; $p=0.0001$), natomiast ujemnie z częstością akcji serca ($r= -0.26 \pm 0.05$; $p=0.0001$). CTK tętna_a zależało dodatnio od wieku ($r= 0.21 \pm 0.05$; $p=0.0008$), CTK śr ($r= 0.29 \pm 0.06$; $p=0.0001$) oraz palenia tytoniu ($r= 3.74 \pm 1.4$; $p=0.008$), natomiast ujemnie od częstości akcji serca ($r= -0.31 \pm 0.05$; $p=0.0001$) oraz regularnego picia alkoholu ($r= -2.97 \pm 1.55$; $p=0.06$).

Spośród parametrów usztywnienia ścian naczyń, AG korelowało dodatnio z wiekiem ($r= 0.25 \pm 0.03$; $p=0.0001$), płcią męską ($r= 4.80 \pm 0.67$; $p=0.0001$), CTK śr ($r= 0.16 \pm 0.03$; $p=0.0001$) oraz słabo z dodatnim wywiadem w kierunku palenia tytoniu ($r= 1.77 \pm 0.74$; $p=0.02$), natomiast ujemnie z częstością akcji serca ($r= -0.24 \pm 0.03$; $p=0.0001$). AIx_o i AIx_a wzrastały wraz z wiekiem ($r_{AIx_o}= 0.82 \pm 0.09$; $p=0.009$) ($r_{AIx_a}= 0.87 \pm 0.10$, $p=0.0001$), płcią męską ($r_{AIx_o}= 7.74 \pm 3.21$; $p=0.0001$) ($r_{AIx_a}= 11.97 \pm 3.36$, $p=0.0005$), CTK śr ($r_{AIx_o}= 0.38 \pm 0.10$; $p=0.0001$) ($r_{AIx_a}= 0.39 \pm 0.10$, $p=0.0001$), paleniem tytoniu ($r_{AIx_o}= 6.54 \pm 2.32$; $p=0.005$) ($r_{AIx_a}= 6.69 \pm 2.43$, $p=0.006$), malały zaś wraz ze wzrostem częstości akcji serca ($r_{AIx_o}= -0.58 \pm 0.09$; $p=0.0001$) ($r_{AIx_a}= -0.86 \pm 0.09$, $p=0.0001$) i wzrostu ciała ($r_{AIx_o}= -0.42 \pm 0.18$; $p=0.02$) ($r_{AIx_a}= -0.49 \pm 0.19$, $p=0.01$). Obwodowy i aortalny wskaźniki wzmocnienia fali istotnie statystycznie zależały również od osoby wykonującej pomiar analizy fali tętna ($r_{AIx_o}= 4.79 \pm 2.03$; $p=0.02$) ($r_{AIx_a}= 4.79 \pm 2.13$; $p=0.03$).

Na podstawie otrzymanych wyników, dalsze analizy przeprowadzane dla parametrów analizy fali tętna standaryzowano o wiek i płeć badanych osób, wzrost ciała, częstość akcji serca, CTK śr, palenie tytoniu, regularne picie alkoholu, stosowane leczenie przeciw nadciśnieniowe oraz o osobę wykonującą pomiar.

Częstość występowania alleli i genotypów polimorfizmów G-6A genu AGT, D/I genu ACE i A1166C genu AT1R w badanej populacji

Rozkład częstości genotypów analizowanych polimorfizmów genów AGT, ACE i AT1R w badanej populacji był zgodny z rozkładem przewidywanym prawem Hardy-Weinberga: polimorfizm G-6A genu AGT ($p=0.52$), polimorfizm D/I genu ACE ($p=0.57$) oraz polimorfizm A1166C genu AT1R ($p=0.89$).

Grupa osób z prawidłowymi wartościami ciśnienia nie różniła się w istotny sposób od osób z nadciśnieniem tętniczym pod względem częstości występowania alleli G i A polimorfizmu G-6A genu AGT ($p=0.92$), D i I polimorfizmu D/I genu ACE ($p=0.25$) oraz A i C polimorfizmu A1166C genu AT1R ($p=0.70$), a także genotypów polimorfizmów G-6A ($p=0.65$), D/I ($p=0.36$) oraz A1166C ($p=0.89$) (Tabela 6).

Podobnie pomiędzy pokoleniami ($0.13 \leq p \leq 0.76$) oraz w zależności od płci ($0.21 \leq p \leq 0.93$) nie stwierdzono różnic w rozkładzie analizowanych alleli. Również rozkład genotypów analizowanych polimorfizmów nie różnił się pomiędzy pokoleniami ($0.10 \leq p \leq 0.94$) oraz płciami ($0.43 \leq p \leq 0.99$).

Tabela 6. Rozkład alleli i genotypów polimorfizmów G-6A genu AGT, D/I genu ACE oraz A1166C genu AT1R w badanej populacji oraz w grupach z prawidłowym ciśnieniem krwi i z nadciśnieniem tętniczym. Dane przedstawiono jako liczbę osób (%).

Gen	Allele			Genotypy		
	A	G	AA	AG	GG	
<i>ATG G-6A</i>	Ogółem	221 (59.7 %)	149 (40.3 %)	69 (37.3 %)	83 (44.9 %)	33 (17.8 %)
	Prawidłowe ciśnienie	139 (59.9 %)	93 (40.1 %)	45 (38.8 %)	49 (42.2 %)	22 (19.0 %)
	Nadciśnienie tętnicze	82 (59.4 %)	56 (40.6 %)	24 (34.8 %)	34 (49.3 %)	11 (15.9 %)
<i>ACE D/I</i>		D	I	DD	DI	II
	Ogółem	184 (49.7 %)	186 (50.3 %)	43 (23.2 %)	98 (53.0 %)	44 (23.8 %)
	Prawidłowe ciśnienie	110 (47.4 %)	122 (53.6 %)	23 (19.8 %)	64 (55.2 %)	29 (25.0 %)
	Nadciśnienie tętnicze	74 (53.6 %)	64 (46.4 %)	20 (29.0 %)	34 (49.3 %)	15 (21.7 %)
<i>AT1R A1166C</i>		A	C	AA	AC	CC
	Ogółem	291 (78.6 %)	79 (21.4 %)	114 (61.6 %)	63 (34.1 %)	8 (4.3 %)
	Prawidłowe ciśnienie	181 (78.0 %)	51 (22.0 %)	70 (60.3 %)	41 (35.4 %)	5 (4.3 %)
	Nadciśnienie tętnicze	110 (79.7 %)	28 (20.3 %)	44 (63.8 %)	22 (31.9 %)	3 (4.3 %)

Polimorfizmy G-6A genu AGT, D/I genu ACE i A1166C genu AT1R a parametry ciśnieniowe i usztywnienia ścian dużych tętnic

Polimorfizm D/I genu ACE

Analiza asocjacji

W populacji ogólnej, wśród rodziców oraz dzieci nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy osobami należącymi do poszczególnych grup genotypowych w zakresie badanego polimorfizmu a wartościami ciśnień rozkurczowych, uzyskanych metodą konwencjonalną ($p \geq 0.38$), podczas 24-godzinnego zapisu ($p \geq 0.37$) oraz metodą analizy fali tętna ($p \geq 0.22$).

Również w odniesieniu do wartości ciśnień skurczowych, zmierzonych metodą konwencjonalną, 24-godzinnym pomiarem oraz metodą analizy fali tętna, nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy analizowanymi genotypami (Tabela 7).

Jednakże analizy przeprowadzone pomiędzy poszczególnymi genotypami, wykazały istotnie niższe wartości CTK sk_a w populacji ogólnej, rodziców i dzieci oraz CTK sk_24 w grupie rodziców, u osób z genotypem DD w porównaniu z osobami z genotypem II (Rycina 4). W trzech analizowanych grupach nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy genotypami DD a II w odniesieniu do wartości CTK sk ($p \geq 0.50$).

W analizach dotyczących ciśnień tętna wykazano istotnie statystycznie różnice pomiędzy analizowanymi genotypami w zakresie CTK tętna_a w populacji ogólnej z wartościami granicznymi w podgrupach rodziców i dzieci oraz w zakresie CTK tętna_24 w podgrupie rodziców (Tabela 8).

U osób z genotypem DD, w porównaniu z osobami z genotypem II, wykazano istotnie niższe wartości CTK tętna_a w populacji ogólnej, rodziców i dzieci oraz CTK tętna_24 w podgrupie rodziców (Rycina 4). W trzech analizowanych grupach nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy genotypami DD a II w odniesieniu do CTK tętna ($p \geq 0.41$).

W dalszych analizach przeprowadzonych w populacji ogólnej, wśród rodziców oraz ich potomków nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy osobami należącymi do poszczególnych grup genotypowych w zakresie polimorfizmu D/I genu ACE a wartościami AG ($p \geq 0.10$), AIx_o ($p \geq 0.14$) oraz AIx_a ($p \geq 0.11$).

Tabela 7. Analiza asocjacji ciśnień skurczowych w odniesieniu do polimorfizmu D/I genu ACE w rodzinach nuklearnych, wśród rodziców oraz dzieci. Parametry ciśnień skurczowych przedstawiono jako wystandaryzowane średnie arytmetyczne \pm SE.

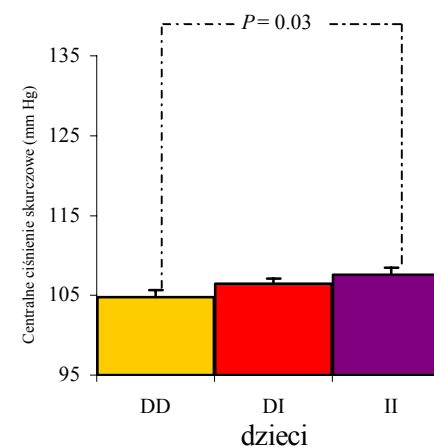
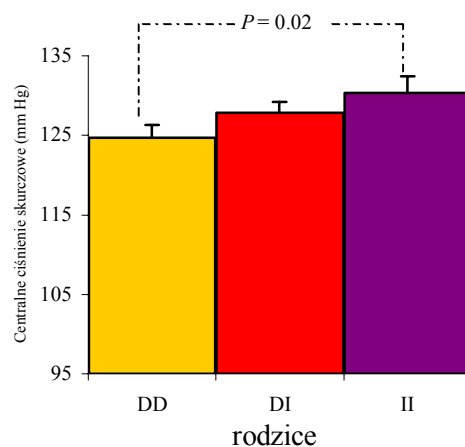
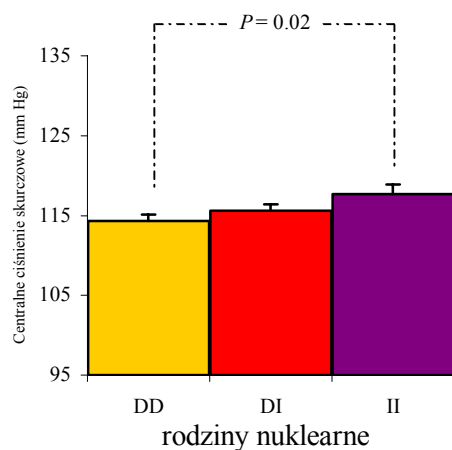
* - średnia z 5 pomiarów CTK otrzymanych w trakcie jednej wizyty domowej.

P_{ANOVA} przedstawia różnice pomiędzy genotypem DD, DI oraz II.

Fenotyp		Liczba	Wystandaryzowane średnie \pm SE			P_{ANOVA}
			DD / D I / II	DD	DI	
CTK sk_a	Ogółem	43 / 98 / 44	114.3 \pm 0.8	115.6 \pm 0.8	117.7 \pm 1.2	0.15
	Rodzice	20 / 43 / 19	124.7 \pm 1.6	127.8 \pm 1.4	130.3 \pm 2.1	0.17
	Dzieci	23 / 55 / 25	104.8 \pm 0.9	106.5 \pm 0.6	107.6 \pm 0.9	0.11
CTK sk*	Ogółem	43 / 98 / 44	129.8 \pm 2.2	128.4 \pm 1.6	130.4 \pm 2.0	0.80
	Rodzice	20 / 43 / 19	135.5 \pm 3.6	138.2 \pm 2.4	137.8 \pm 3.4	0.82
	Dzieci	23 / 55 / 25	126.1 \pm 2.7	119.8 \pm 1.3	123.8 \pm 1.9	0.09
CTK sk_24	Ogółem	43 / 98 / 44	119.7 \pm 1.3	119.9 \pm 0.8	120.7 \pm 1.3	0.85
	Rodzice	20 / 43 / 19	120.0 \pm 1.5	123.4 \pm 1.6	124.0 \pm 1.9	0.08
	Dzieci	23 / 55 / 25	119.4 \pm 1.8	117.0 \pm 0.9	117.0 \pm 1.3	0.49

Rycina 4. Wpływ genotypów DD, DI oraz II genu ACE na wartości aortalnego i 24-godzinne ciśnienia skurczowego w rodzinach nuklearnych, wśród rodziców oraz dzieci. Kolumny przedstawiają wystandaryzowane średnie. Podłużne linie reprezentują SE.

Aortalne ciśnienie skurczowe



24-godzinne ciśnienie skurczowe

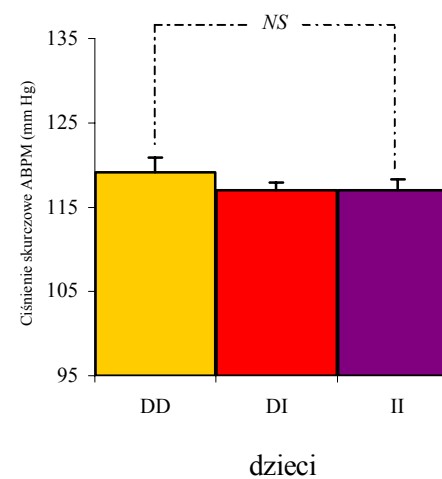
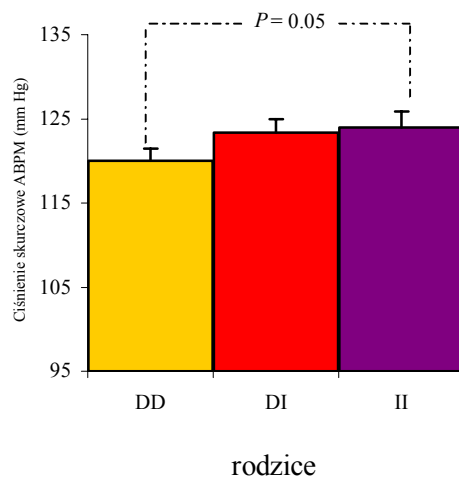
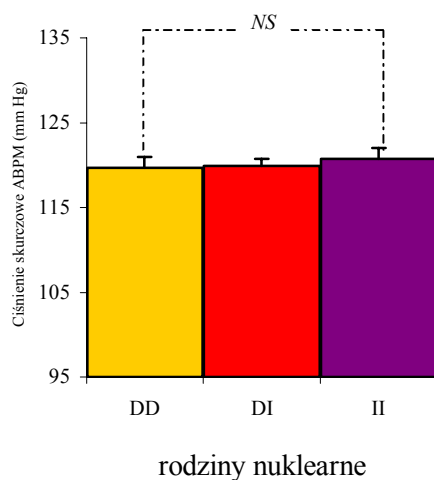


Tabela 8. Analiza asocjacji ciśnień tętna w odniesieniu do polimorfizmu D/I genu ACE w rodzinach nuklearnych, wśród rodziców oraz dzieci.

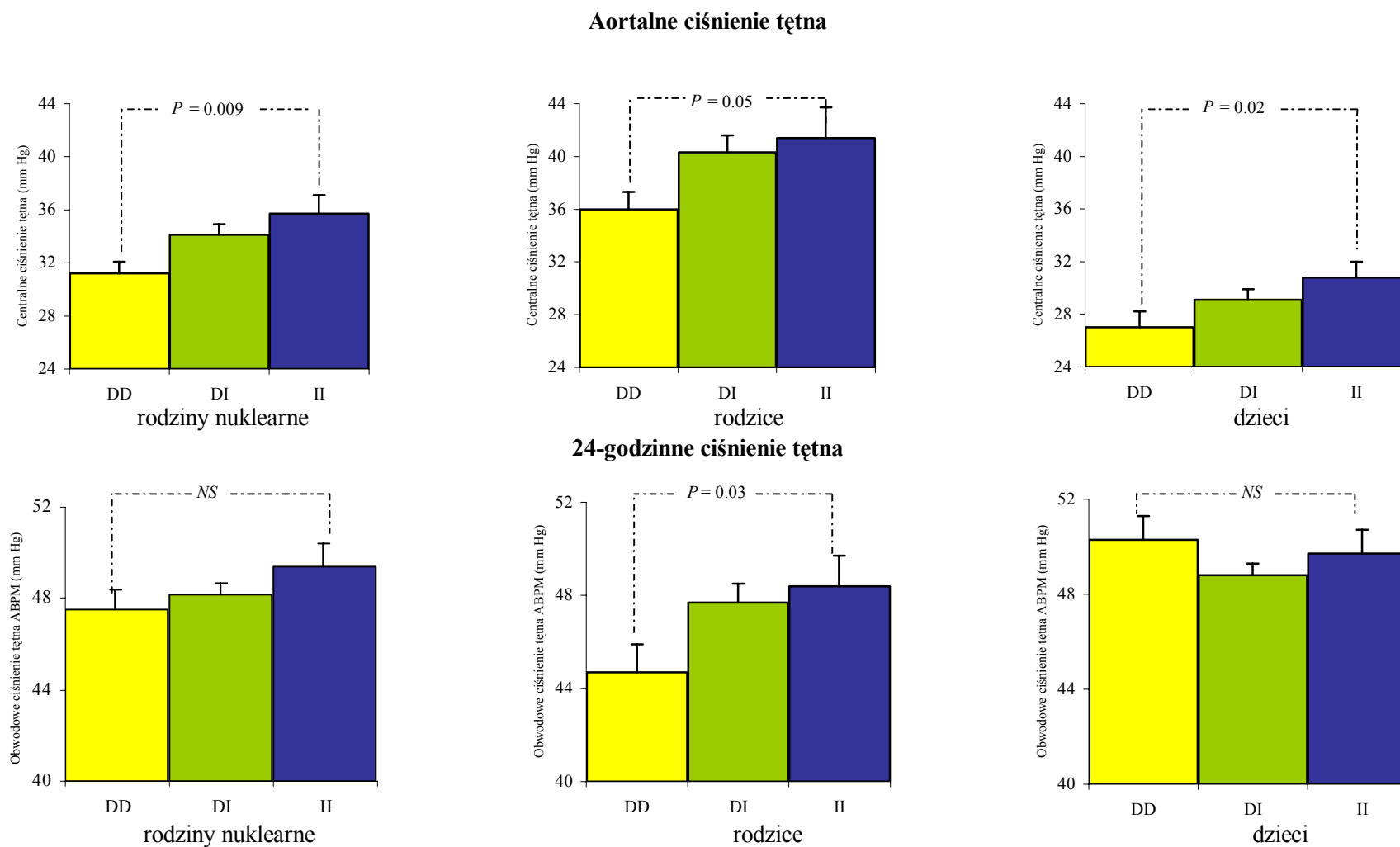
Parametry ciśnień tętna przedstawiono jako wystandaryzowane średnie arytmetyczne \pm SE.

* - średnia z 5 pomiarów CTK otrzymanych w trakcie jednej wizyty domowej.

P_{ANOVA} przedstawia różnice pomiędzy genotypem DD, DI oraz II.

Fenotyp		Liczba	Wystandaryzowane średnie \pm SE			P_{ANOVA}
			DD / DI / II	DD	DI	
CTK tętna_a	Ogółem	43 / 98 / 44	31.2 \pm 0.9	34.1 \pm 0.8	35.7 \pm 1.4	0.05
	Rodzice	20 / 43 / 19	36.0 \pm 1.3	40.3 \pm 1.3	41.4 \pm 2.3	0.08
	Dzieci	23 / 55 / 25	27.0 \pm 1.2	29.1 \pm 0.8	30.8 \pm 1.2	0.08
CTK tętna*	Ogółem	43 / 98 / 44	48.2 \pm 1.7	47.8 \pm 1.1	49.7 \pm 1.9	0.70
	Rodzice	20 / 43 / 19	49.0 \pm 2.4	51.9 \pm 1.8	49.6 \pm 2.8	0.62
	Dzieci	23 / 55 / 25	47.2 \pm 2.1	44.6 \pm 1.2	49.5 \pm 1.8	0.10
CTK tętna_24	Ogółem	43 / 98 / 44	47.5 \pm 0.9	48.2 \pm 0.5	49.4 \pm 1.0	0.30
	Rodzice	20 / 43 / 19	44.7 \pm 1.2	47.7 \pm 0.8	48.4 \pm 1.3	0.05
	Dzieci	23 / 55 / 25	50.3 \pm 1.0	48.8 \pm 0.5	49.7 \pm 1.0	0.38

Rycina 5. Wpływ genotypów DD, DI oraz II genu ACE na wartości aortalnego i 24-godzinnego ciśnienia tętna w rodzinach nuklearnych, wśród rodziców oraz dzieci. Kolumny przedstawiają wystandaryzowane średnie. Podłużne linie reprezentują SE.



Test nierównowagi transmisji dla zmiennych ciągłych (QTDT – transmission disequilibrium test for quantitative traits)

W teście QTDT potwierdzono pozytywne wyniki analizy asocjacji w pokoleniu potomków w zakresie CTK tętna_a oraz uzyskano graniczne wartości dla CTK sk_a (Tabela 9).

Tabela 9. Analiza QTDT w odniesieniu do polimorfizmu D/I genu ACE. Model ortogonalny Abecasisa wystandaryzowano o zewnątrz i wewnątrz-rodzinne składowe wariancji. Współczynnik regresji wskazuje na wielkość i kierunek asocjacji dla transmisji allelu I genu ACE.

Fenotyp	Liczba informatywnych dzieci / liczba wszystkich dzieci	Model ortogonalny Abecasisa		
		β	χ^2	p
Parametry ciśnieniowe				
CTK rozk_a (mmHg)	64 / 103	-1.21	2.29	0.13
CTK rozk (mmHg)	64 / 103	-1.47	0.65	0.42
CTK rozk_24 (mmHg)	64 / 103	-0.75	0.61	0.43
CTK sk_a (mmHg)	64 / 103	1.30	2.75	0.07
CTK sk (mmHg)	64 / 103	1.26	0.31	0.57
CTK sk_24 (mmHg)	64 / 103	-0.8	0.36	0.55
CTK tętna_a (mmHg)	64 / 103	2.53	4.55	0.03
CTK tętna (mmHg)	64 / 103	2.76	1.84	0.17
CTK tętna_24 (mmHg)	64 / 103	0.19	0.04	0.83
Parametry usztywnienia				
AG (mmHg)	64 / 103	0.61	1.36	0.24
AIx_o (%)	64 / 103	-1.63	0.37	0.54
AIx_a (%)	64 / 103	1.70	1.01	0.31

Polimorfizm G-6A genu AGT

Analiza asocjacji

W populacji ogólnej, wśród rodziców oraz dzieci nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy osobami należącymi do poszczególnych grup genotypowych polimorfizmu G-6A genu AGT w zakresie wartości ciśnień rozkurczowych ($0.12 \leq p \leq 0.87$), skurczowych ($0.21 \leq p \leq 0.96$) oraz ciśnień tętna ($0.42 \leq p \leq 0.99$), uzyskanych metodą konwencjonalną, podczas 24-godzinnego zapisu i metodą analizy fali tętna oraz wzmocnienia fali aortalnej ($0.19 \leq p \leq 0.32$), obwodowego ($0.09 \leq p \leq 0.16$) i aortalnego ($0.08 \leq p \leq 0.71$) wskaźnika wzmocnienia fali.

Polimorfizm A1166C genu AT1R

Analiza asocjacji

W związku z częstością występowania homozygot CC polimorfizmu A1166C genu AT1R w badanej populacji wynoszącą 4.3 %, zakładając recesywny model efektu fenotypowego, w analizach statystycznych porównywano wyniki uzyskane u homozygot AA z nosicielami allelu C.

W populacji ogólnej, wśród rodziców oraz dzieci nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy homozygotami AA a nosicielami allelu C w odniesieniu do wartości ciśnień rozkurczowych ($0.06 \leq p \leq 0.91$), skurczowych ($0.14 \leq p \leq 0.89$) oraz ciśnień tętna ($0.07 \leq p \leq 0.99$), uzyskanych metodą konwencjonalną, podczas 24-godzinnego zapisu i metodą analizy fali tętna oraz wzmocnienia fali aortalnej ($0.37 \leq p \leq 0.76$), obwodowego ($0.22 \leq p \leq 0.98$) i aortalnego ($0.41 \leq p \leq 0.88$) wskaźnika wzmocnienia fali.

Cisnienie tętnicze i sztywność naczyń – rola interakcji czynników środowiskowych, płci i polimorfizmów genetycznych

Zależności pomiędzy czynnikami genetycznymi a dobowym wydalaniem sodu z moczem

W badanej populacji przeprowadzono analizy dotyczące interakcji pomiędzy polimorfizmami G-6A genu AGT, D/I genu ACE oraz A1166C genu AT1R a dobowym wydalaniem sodu z moczem, w odniesieniu do parametrów ciśnieniowych i usztywnienia ścian tętnic.

Dla polimorfizmu G-6A genu AGT powyższa interakcja nie osiągnęła statystycznej znamienności w zakresie parametrów ciśnieniowych ($p \geq 0.12$) oraz sztywności ścian naczyń ($p \geq 0.13$).

Również interakcja pomiędzy polimorfizmem A1166C genu AT1R a zawartością sodu w dobowej zbiórce moczu nie osiągnęła istotności statystycznej dla parametrów ciśnieniowych ($p \geq 0.10$) i usztywnienia tętnic ($p \geq 0.56$).

Jednakże analizy przeprowadzone w populacji ogólnej, dotyczące interakcji pomiędzy polimorfizmem D/I genu ACE a dobowym wydalaniem sodu, wykazały istotne statystycznie zależności w odniesieniu do CTK sk_a ($p=0.03$), CTK tętna_a ($p=0.01$), CTK tętna ($p=0.02$) oraz AG ($p=0.05$).

W badanej populacji przeprowadzono analizę asocjacji pomiędzy parametrami ciśnieniowymi oraz usztywnienia ścian naczyń z polimorfizmem D/I genu ACE w tercylach dobowego wydalania sodu z moczem. W grupie homozygot II, w porównaniu z nosicielami allelu D, w trzecim tercylu wydalania sodu obserwowano istotnie statystyczne wyższe wartości CTK sk_a (125.6 ± 2.6 vs 118.3 ± 1.4 mmHg, $p=0.02$) oraz graniczne CTK sk (138.3 ± 4.3 vs 130.6 ± 2.3 mmHg, $p=0.09$), czego nie obserwowano w pierwszym i drugim tercylu (Rycina 6).

Podobne zależności obserwowano również w odniesieniu do wartości ciśnień tętna, uzyskanych metodą analizy fali tętna (42.2 ± 2.0 vs 33.5 ± 1.0 mmHg, $p=0.0001$), metodą konwencjonalną (53.1 ± 1.8 vs 47.7 ± 1.4 mmHg, $p=0.0004$) oraz podczas 24-godzinnej zapisu (50.1 ± 1.1 vs 47.8 ± 0.8 mmHg, $p=0.005$) (Rycina 7).

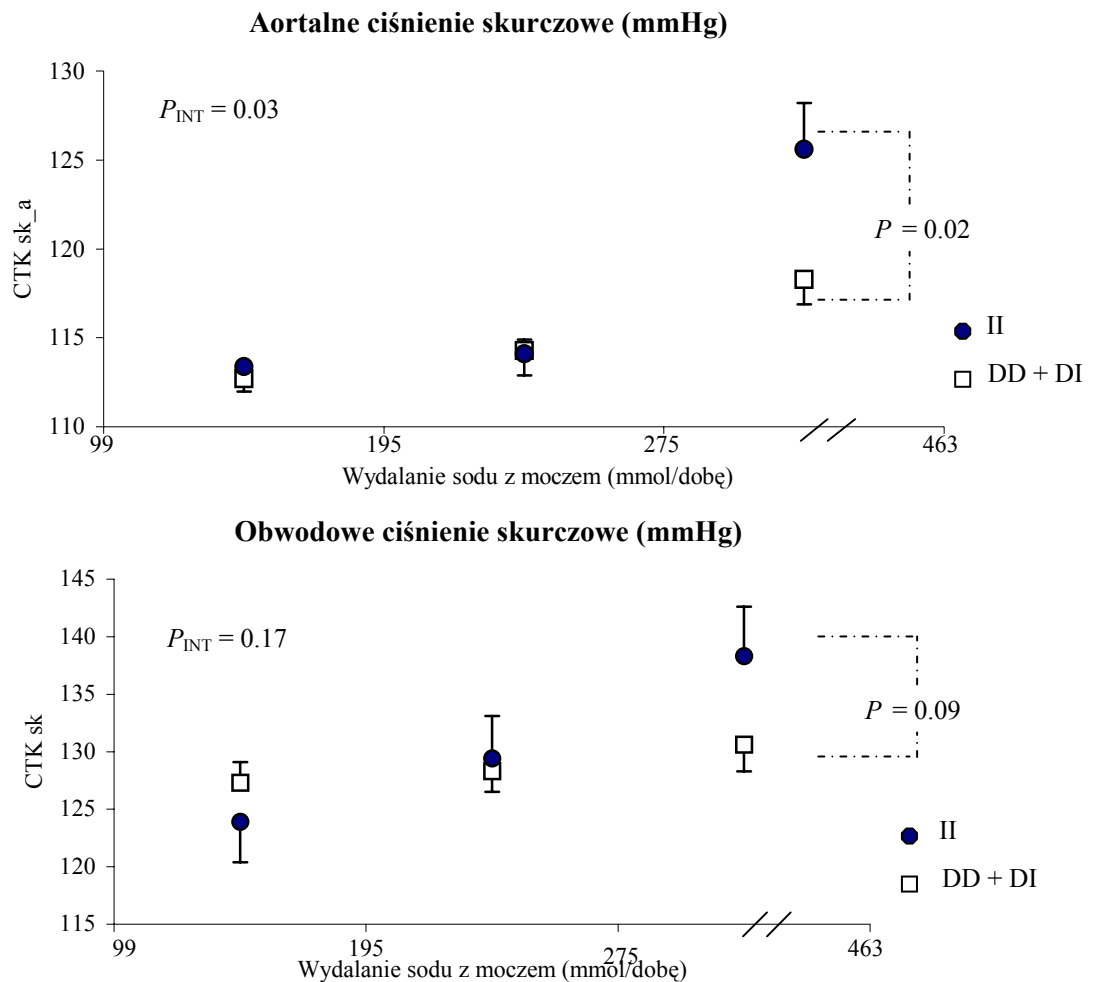
Analizując parametry usztywnienia ścian tętnic, w trzecim tercylu wydalania sodu z moczem, u homozygot II w porównaniu z nosicielami allelu D genu ACE,

stwierdzono istotnie statystycznie wyższe wartości AG (9.4 ± 1.2 vs 6.0 ± 0.6 mmHg, $p=0.02$) oraz wskaźnika AIx_a (20.1 ± 2.4 vs 16.1 ± 1.0 %, $p=0.07$). Powyższych zależności nie obserwowano w pierwszym oraz drugim tercylu wydalania sodu (Rycina 8).

Rycina 6. Analiza asocjacji aortalnego i obwodowych ciśnień skurczowych z polimorfizmem D/I genu ACE w rodzinach nuklearnych, w tercylach 24-godzinne go wydalania sodu z moczem.

Koła oraz kwadraty przedstawiają wystandaryzowane średnie arytmetyczne. Podłużne linie reprezentują SE.

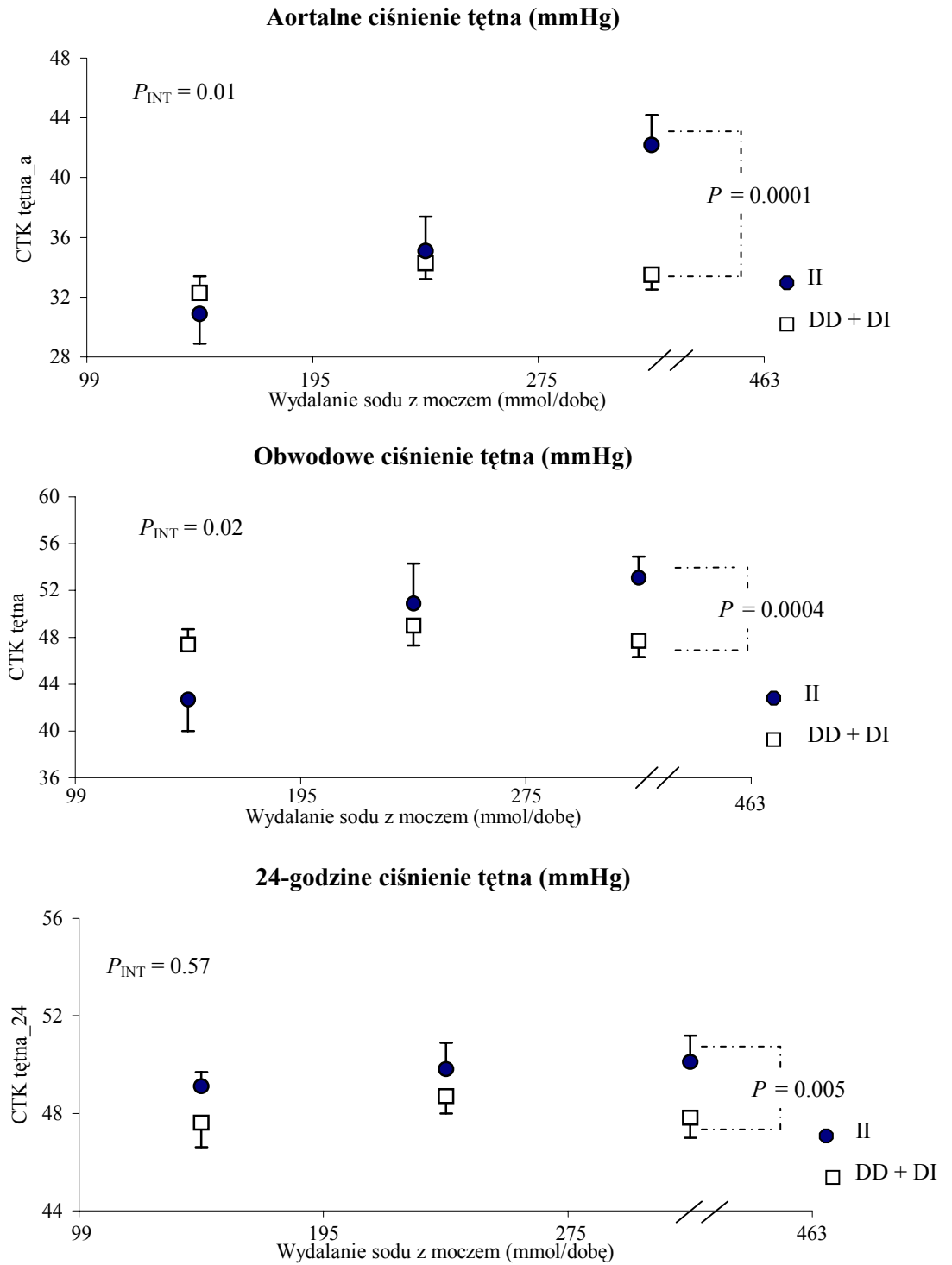
P_{INT} przedstawia interakcję pomiędzy genotypem ACE i 24-godzinnym wydalaniem sodu z moczem.



Rycina 7. Analiza asocjacji aortalnego i obwodowych ciśnień tętna z polimorfizmem D/I genu ACE w rodzinach nuklearnych, w tercylach 24-godzinne wydalania sodu z moczem.

Koła oraz kwadraty przedstawiają wystandaryzowane średnie arytmetyczne. Podłużne linie reprezentują SE.

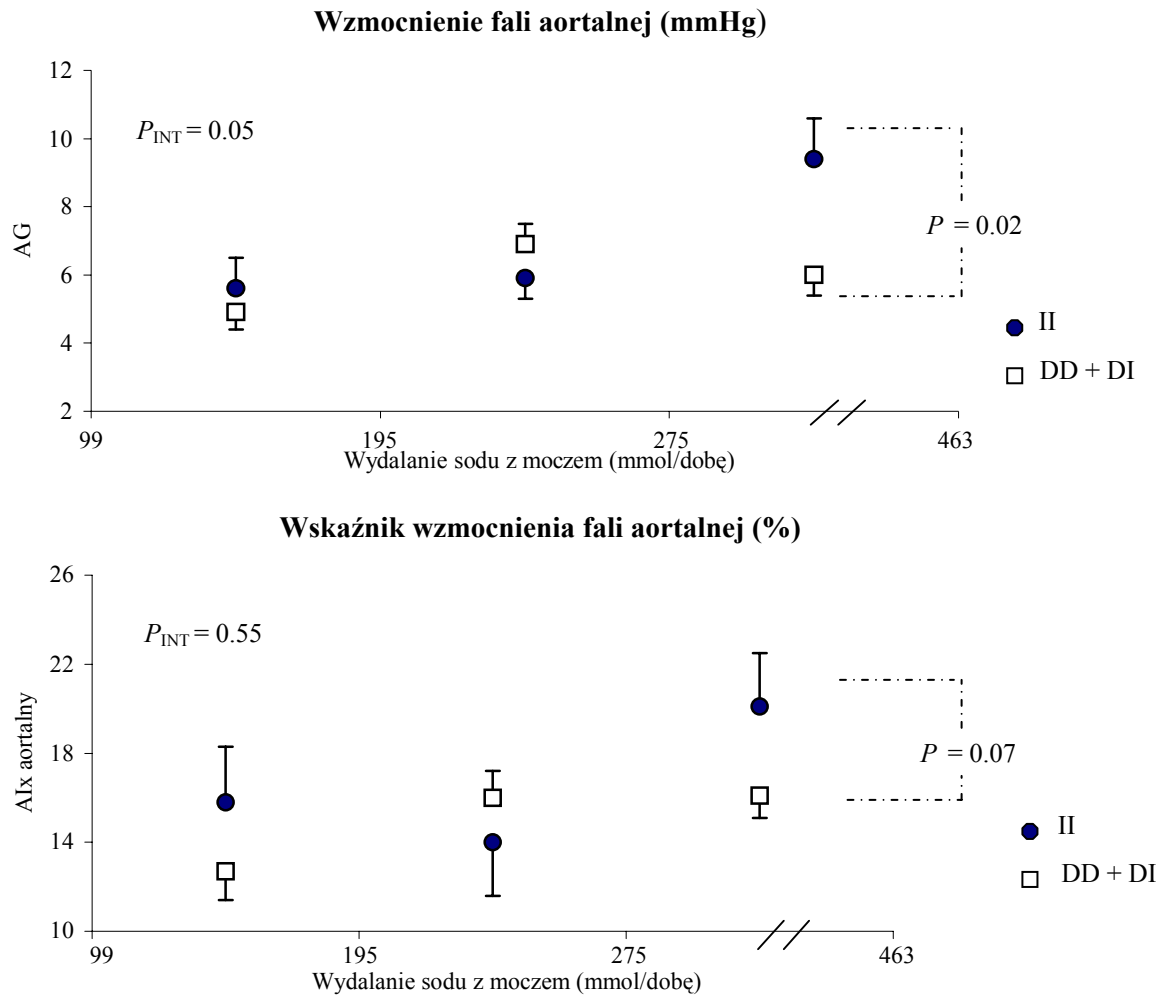
P_{INT} przedstawia interakcję pomiędzy genotypem ACE i 24-godzinnym wydalaniem sodu z moczem.



Rycina 8. Analiza asocjacji wskaźników przebudowy ścian naczyń z polimorfizmem D/I genu ACE w rodzinach nuklearnych, w tercylach 24-godzinne go wydalania sodu z moczem.

Koła oraz kwadraty przedstawiają wystandaryzowane średnie arytmetyczne. Podłużne linie reprezentują SE.

P_{INT} przedstawia interakcję pomiędzy genotypem ACE i 24-godzinnym wydalaniem sodu z moczem.



Zależności pomiędzy czynnikami genetycznymi a płcią

W badanej populacji przeprowadzono analizy dotyczące interakcji pomiędzy polimorfizmami G-6A genu AGT, D/I genu ACE oraz A1166C genu AT1R a płcią badanych osób w odniesieniu do parametrów ciśnieniowych i usztywnienia ścian tętnic. Powyższe interakcje nie osiągnęły znaczenia statystycznego w zakresie parametrów ciśnieniowych ($0.08 \leq p \leq 0.88$) oraz sztywności ścian naczyń ($0.14 \leq p \leq 0.94$) dla trzech analizowanych polimorfizmów.

Zależności pomiędzy polimorfizmami genetycznymi

W badanej grupie przeprowadzono analizy dotyczące wzajemnego wpływu polimorfizmów G-6A, D/I oraz A1166C na parametry ciśnieniowe i usztywnienia ścian tętnic.

Interakcje pomiędzy polimorfizmem G-6A genu AGT a polimorfizmem D/I genu ACE nie wykazały istotności statystycznej dla parametrów ciśnieniowych ($0.10 \leq p \leq 0.98$) oraz usztywnienia ścian tętnic ($0.11 \leq p \leq 0.69$). Podobnie nie obserwowano istotności statystycznej dla interakcji pomiędzy polimorfizmem G-6A genu AGT a polimorfizmem A1166C genu AT1R dla parametrów ciśnieniowych ($0.20 \leq p \leq 0.55$) i usztywnienia tętnic ($0.09 \leq p \leq 0.80$).

W dalszej części analizowano interakcję pomiędzy polimorfizmami D/I genu ACE i A1166C genu AT1R na parametry ciśnienia tętniczego i przebudowy naczyniowej. Polimorfizm D/I analizowano, zakładając dominujący model dziedziczenia, natomiast polimorfizm A1166C recesywny model efektu fenotypowego.

W przeprowadzonych analizach uzyskano istotne statystycznie wartości interakcji pomiędzy analizowanymi polimorfizmami a parametrami ciśnienia skurczowego, uzyskanych metodą analizy fali tętna ($p=0.03$), metodą konwencjonalną ($p=0.02$) oraz podczas 24-godzinnej zapisu ($p=0.03$). Istotne statystycznie wartości interakcji uzyskano także dla ciśnienia tętna uzyskanych metodą analizy fali tętna ($p=0.007$), metodą konwencjonalną ($p=0.008$) oraz podczas 24-godzinnej zapisu ($p=0.02$), podczas gdy wartości interakcji dla ciśnienia rozkurczowego ($p \geq 0.16$) oraz parametrów usztywnienia tętnic nie osiągnęły statystycznej istotności ($p \geq 0.15$).

W badanej populacji analizie poddano również interakcje pomiędzy trzema ocenianymi polimorfizmami genetycznymi, w odniesieniu do parametrów

ciśnieniowych i usztywnienia. Przeprowadzone analizy nie wykazały statystycznej istotnych interakcji zarówno dla parametrów ciśnieniowych ($0.09 \leq p \leq 0.24$), jak i dla parametrów usztywnienia ścian tętnic ($0.11 \leq p \leq 0.59$).

W Tabeli 10 przedstawiono rozkład centralnych, konwencjonalnych oraz 24-godzinnych ciśnień skurczowych krwi, w zależności od genotypów DD, DI i II genu ACE oraz od nosicielstwa allelu C genu ATR1.

W analizowanej populacji, u nosicieli allelu C, CTK sk_a było o 7.5 mmHg (95 % CI, od 5.2 mmHg do 9.8 mmHg; $p=0.0005$) wyższe u homozygot II, w porównaniu z homozygotami DD. Dla wartości konwencjonalnych ($p=0.29$) oraz 24-godzinnych ($p=0.68$) ciśnień skurczowych nie stwierdzono powyższej zależności.

Tabela 10. Parametry ciśnień skurczowych w odniesieniu do polimorfizmów D/I genu ACE oraz A1166C genu ATR1 w rodzinach nuklearnych.
 p_{INT} - przedstawia interakcję pomiędzy genotypami genu ACE oraz brakiem lub obecnością allelu C genu ATR1.

Allele i genotypy	CTK sk_a	p_{INT}	CTK sk	p_{INT}	CTK sk_24	p_{INT}
Liczba	114		114		114	
DD / AA	116.2 ± 1.6		135.7 ± 2.9		121.8 ± 1.8	
DI / AA	114.9 ± 1.0		126.4 ± 1.6		118.6 ± 1.0	
II / AA	116.3 ± 1.6		128.9 ± 2.6		121.2 ± 1.6	
Liczba	71		71		71	
DD / AC + CC	112.5 ± 1.0		126.4 ± 2.8		117.8 ± 1.8	
DI / AC + CC	117.2 ± 1.0		131.1 ± 2.6		122.3 ± 1.4	
II / AC + CC	120.0 ± 1.8	0.03	131.2 ± 3.4	0.02	119.0 ± 2.2	0.03

Rozkład centralnych, konwencjonalnych oraz 24-godzinnych ciśnień tętna, w zależności od genotypów DD, DI i II genu ACE oraz od nosicielstwa allelu C genu AT1R, przedstawiono w Tabeli 11.

U nosicieli allelu C, CTK tętna_a było o 8.4 mmHg (95 % CI, od 6.1 mmHg do 10.7 mmHg; $p=0.0007$) wyższe u homozygot II, w porównaniu z homozygotami DD. U nosicieli allelu C, CTK tętna było o 7.7 mmHg (95 % CI, od 5.1 mmHg do 10.3 mmHg; $p=0.003$), natomiast CTK tętna_24 o 3.0 mmHg (95 % CI, od 1.3 mmHg do 4.7 mmHg; $p=0.09$) wyższe u homozygot II w porównaniu z homozygotami DD.

Tabela 11. Parametry ciśnień tętna w odniesieniu do polimorfizmów D/I genu ACE oraz A1166C genu ATR1 w rodzinach nuklearnych.
 p_{INT} - przedstawia interakcję pomiędzy genotypami genu ACE oraz brakiem lub obecnością allelu C genu ATR1.

Allele i genotypy	CTK tętna_a	p_{INT}	CTK tętna	p_{INT}	CTK tętna_24	p_{INT}
Liczba	114		114		114	
DD / AA	34.4 ± 1.2		53.2 ± 2.2		48.9 ± 1.1	
DI / AA	33.3 ± 1.0		45.7 ± 1.0		47.6 ± 0.6	
II / AA	35.1 ± 1.8		52.1 ± 2.1		49.4 ± 1.0	
Liczba	71		71		71	
DD / AC + CC	28.2 ± 1.2		43.1 ± 1.5		45.8 ± 1.1	
DI / AC + CC	35.8 ± 1.5		50.0 ± 1.9		49.8 ± 0.9	
II / AC + CC	36.6 ± 2.0	0.007	50.8 ± 2.1	0.008	48.8 ± 1.3	0.02

W Tabeli 12 przedstawiono rozkład AG oraz AIx_a i AIx_o, w zależności od genotypów DD, DI i II genu ACE oraz od nosicielstwa allelu C genu AT1R.

U nosicieli allelu C, AG było o 3.7 mmHg (95 % CI od 2.4 mmHg do 5.0 mmHg; p=0.004) wyższe u homozygot II, w porównaniu z homozygotami DD.

U nosicieli allelu C, AIx_a był o 5.7 % (95 % CI od 3.8 % do 7.7 %; p=0.03), natomiast AIx_o o 7.1 % (95 % CI od 2.9 % do 11.3 %; p=0.07) wyższy u homozygot II w porównaniu z homozygotami DD.

Tabela 12. Parametry usztywnienia ścian naczyń w odniesieniu do polimorfizmów D/I genu ACE oraz A1166C genu ATR1 w rodzinach nuklearnych.
p_{INT} - przedstawia interakcję pomiędzy genotypami genu ACE oraz brakiem lub obecnością allelu C genu ATR1.

Allele i genotypy	AG	p _{INT}	AIx_a	p _{INT}	AIx_o	p _{INT}
Liczba	114		114		114	
DD / AA	5.6 ± 0.7		13.9 ± 1.6		67.7 ± 2.4	
DI / AA	6.1 ± 0.5		16.4 ± 1.0		70.4 ± 1.5	
II / AA	6.1 ± 0.7		16.9 ± 1.1		65.3 ± 1.8	
Liczba	71		71		71	
DD / AC + CC	4.6 ± 0.7		13.7 ± 1.6		66.4 ± 2.1	
DI / AC + CC	6.7 ± 0.8		16.0 ± 1.1		70.5 ± 1.5	
II / AC + CC	8.3 ± 1.1	0.15	19.4 ± 1.1	0.67	73.5 ± 3.7	0.19

Podsumowanie uzyskanych wyników

1. Częstość występowania alleli i genotypów analizowanych polimorfizmów genetycznych układu RAA nie różniła się pomiędzy grupami osób z prawidłowym ciśnieniem i z nadciśnieniem tętniczym.

2. W badanej populacji polimorfizm D/I genu ACE wykazuje istotny wpływ na wybrane parametry ciśnieniowe oraz przebudowy ścian tętnic. Homozygotyczność w zakresie allelu D, w porównaniu z homozygotami II, współlistnieje z istotnie niższymi wartościami aortalnego ciśnienia skurczowego i ciśnienia tętna w populacji ogólnej, w podgrupach rodziców i dzieci oraz dobowego ciśnienia skurczowego i ciśnienia tętna w podgrupie rodziców, z pośrednimi wartościami w grupie heterozygot. Asocjację polimorfizmu D/I z wartościami ciśnienia skurczowego i ciśnienia tętna w aorcie potwierdza także test nierównowagi transmisji. W badanej populacji oraz osobno dla każdej z grup pokoleniowych nie stwierdzono natomiast związku polimorfizmów G-6A i A1166C z wartościami parametrów ciśnieniowych oraz wskaźnikami usztywnienia ścian tętnic.

3. W badanej populacji, w odniesieniu do parametrów ciśnieniowych oraz usztywnienia ścian tętnic, wykazano obecność istotnych statystycznie interakcji pomiędzy polimorfizmem D/I genu ACE a dobowym wydalaniem sodu z moczem. W trzecim (najwyższym) tercylu wydalania sodu, w grupie homozygot II, w porównaniu z nosicielami allelu D, obserwowano istotnie wyższe wartości ciśnień skurczowych i ciśnień tętna (uzyskane metodą konwencjonalną, podczas 24-godzinnej zapisu i metodą analizy fali tętna) oraz wyższe wskaźniki usztywnienia ścian dużych tętnic, czego nie obserwowano w pierwszym i drugim tercylu wydalania sodu. Obecności powyższego związku nie stwierdzono w odniesieniu do polimorfizmów G-6A genu AGT i A1166C genu AT1R.

4. W badanej populacji interakcje pomiędzy polimorfizmami D/I genu ACE i A1166C genu AT1R osiągnęły znamienność statystyczną dla parametrów ciśnień skurczowych i ciśnień tętna, uzyskanych metodami konwencjonalną, analizy fali tętna oraz podczas 24-godzinnej zapisu. U nosicieli allelu C wartości aortalnego ciśnienia skurczowego, ciśnień tętna (uzyskanych metodą konwencjonalną, podczas 24-godzinnej zapisu i metodą analizy fali tętna) oraz parametrów usztywnienia ścian tętnic były istotnie wyższe u homozygot II w porównaniu z homozygotami DD.

Dyskusja i omówienie wyników

Częstość występowania alleli i genotypów polimorfizmów G-6A genu AGT, D/I genu ACE oraz A1166C genu AT1R w badanej populacji oraz wśród osób z prawidłowym ciśnieniem i z nadciśnieniem tętniczym

Częstość występowania alleli A i G genu AGT w badanej populacji wyniosła 59.7 % dla allelu A i 40.3 % dla allelu G, natomiast częstość genotypów AA, AG oraz GG wynosiła kolejno 37.3 %, 44.9 % oraz 17.8 %.

Na podstawie wielośrodkowego badania NHLBI, obejmującego 4 322 osoby należące do różnych grup rasowych stwierdzono, iż częstość allelu A wyniosła od 40-53 % u rasy kaukaskiej, poprzez 80-87 % u rasy żółtej, do 83-90 % u rasy czarnej.¹⁰⁹ W populacjach europejskich częstość allelu A kształtowała się od 40.2 % w populacji duńskiej¹¹⁰, poprzez 40.6 % we włoskiej, 51.0 % w rosyjskiej, do 59.7 % w populacji polskiej.¹¹¹ Częstość występowania alleli A i G w badanej populacji była więc najbardziej zbliżona do wyników uzyskanych w populacji polskiej.

W badanej populacji nie wykazano istotnie statystycznego związku pomiędzy częstością alleli G i A polimorfizmu G-6A genu AGT a nadciśnieniem tętniczym, co pozostaje w zgodności z wynikami badania NHLBI.¹⁰⁹

Allele D i I genu ACE w badanej populacji występowały z częstością 49.7 % dla allelu D i 50.3 % dla allelu I, natomiast genotypy DD, DI oraz II kolejno z częstością 23.2 %, 53.0 % oraz 23.8 %.

W metaanalizie przeprowadzonej przez Staessena i wsp.¹¹² obejmującej 49 959 osób wykazano, iż częstość allelu D w populacji ogólnej wynosiła 54.0 % a allelu I - 46.0 %, natomiast częstość genotypów kolejno: 30.5 % dla genotypu DD, 47.0 % dla genotypu DI oraz 22.5 % dla genotypu II. W badaniu stwierdzono jednakże istotne różnice ($p < 0.0001$) w częstości występowania alleli i genotypów polimorfizmu D/I w zależności od grupy rasowej, z najwyższą częstością allelu D (60.3 %) wśród rasy czarnej, pośrednią (56.2 %) u rasy kaukaskiej, a najniższą (39.1 %) u rasy żółtej. Kolejna metaanaliza potwierdziła zbliżoną częstość występowania allelu D (46.2 %) w populacji ogólnej oraz zależność pomiędzy częstością alleli a rasą.¹¹³

W populacjach europejskich niższą częstość allelu D obserwowano w populacjach Słowian (Polska – 49.0-51.4 %^{99;114}, Rosja – 52.9 %⁹⁷, Czechy – 53.7 %⁹⁹

w porównaniu z populacjami zachodnio-europejskimi (Włochy – 58.5 %⁹⁷, Francja – 59.4 %⁹⁰, Belgia – 59.6 %¹¹⁵).

Częstość występowania alleli D i I w badanej populacji była więc bardzo zbliżona do wyników uzyskanych w innych populacjach europejskich, a zwłaszcza polskich.

W analizowanej populacji nie wykazano związku pomiędzy częstością alleli D i I genu ACE a nadciśnieniem tętniczym, co potwierdza wyniki badań polskich^{114;116} oraz metaanalizy Staessena i wsp.¹¹²

Częstość występowania alleli A i C genu AT1R w populacji regionu krakowskiego wynosiła 78.6 % dla allelu A i 21.4 % dla allelu C, natomiast częstość genotypów AA, AC i CC kolejno 61.6 %, 34.1 % oraz 4.3 %.

Kolejna metaanaliza Staessena i wsp.¹¹⁷ obejmująca 4 332 osób wskazała na częstość allelu C w populacji ogólnej wynoszącą 25.7 %, z istotnie statystycznie częstszym występowaniem allelu C u rasy kaukaskiej niż u rasy żółtej ($p < 0.0001$). W populacjach europejskich częstość allelu C mieściła się w granicach 21.8-33.5 %¹¹⁸⁻¹²⁰, natomiast w populacji polskiej wynosiła od 21.8 %¹¹⁹ do 25.0 %.¹¹⁴ Częstość występowania allelu C w badanej populacji była więc bardzo zbliżona do wyników uzyskanych w populacjach polskich i europejskich.

W szeregu prac analizowano związek pomiędzy częstością alleli A i C genu AT1R a występowaniem nadciśnienia tętniczego. W populacjach europejskich początkowo wykazano związek allelu C z częstszym występowaniem nadciśnienia tętniczego⁹², jednakże pozostali badacze nie potwierdzili tej zależności.^{114;121;122} W analizowanej populacji również nie wykazano istotnie statystycznego związku pomiędzy polimorfizmem A1166C a nadciśnieniem tętniczym.

Polimorfizmy genetyczne układu RAA a ciśnienie tętnicze i wskaźniki usztywnienia ścian tętnic

Spośród genów kandydatów rozwoju pierwotnego nadciśnienia tętniczego, przebudowy ścian tętnic oraz pozostałych zmian narządowych, duże zainteresowanie budzą polimorfizmy genów kodujących poszczególne składowe układu RAA.

W przeprowadzonym badaniu, w populacji ogólnej, wśród rodziców oraz ich potomków, nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy osobami należącymi do poszczególnych grup genotypowych w zakresie polimorfizmów G-6A genu AGT i A1166C genu AT1R, a uzyskanymi metodą konwencjonalną, podczas 24-godzinnego zapisu oraz metodą analizy fali tętna wartościami ciśnień rozkurczowych, skurczowych oraz ciśnień tętna.

Jednakże w analizach, dotyczących polimorfizmu D/I genu ACE u osób z genotypem DD, w porównaniu z osobami z genotypem II, wykazano istotnie niższe wartości ciśnień skurczowych i ciśnień tętna zmierzonych metodą analizy fali tętna w populacji ogólnej, wśród rodziców i dzieci oraz ciśnień skurczowych oraz ciśnień tętna zmierzonych metodą 24-godzinnego pomiaru w grupie rodziców. Badany polimorfizm nie wpływał natomiast na wartości ciśnień rozkurczowych uzyskanych przy zastosowaniu trzech metod pomiarowych.

W badanej populacji, wśród rodziców oraz ich potomków nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy osobami należącymi do poszczególnych grup genotypowych w zakresie 3 ocenianych polimorfizmów a parametrami usztywnienia ścian dużych naczyń tętniczych.

Polimorfizmy M235T i G-6A genu angiotensynogenu (AGT)

Jednym z często opisywanych polimorfizmów genu AGT jest polimorfizm M235T, polegający na substytucji metioniny przez treoninę w pozycji 235 łańcucha polipeptydowego AGT. W niezależnie przeprowadzonych badaniach wykazano, iż obecność zmutowanego allelu T235 genu AGT wiąże się ze zwiększonym stężeniem AGT w osoczu.^{85;123} W szeregu badań analizowano wpływ polimorfizmu M235T genu AGT w odniesieniu do ryzyka rozwoju nadciśnienia tętniczego. W najnowszej metaanalizie, obejmującej 45 267 osób z 63 doniesień, potwierdzono związek allelu T235 z umiarkowanym wzrostem ryzyka rozwoju nadciśnienia u rasy kaukaskiej

i żółtej, lecz nie u rasy czarnej.¹²⁴ Natomiast w badaniu Copenhagen City Heart Study wykazano, że ryzyko rozwoju nadciśnienia związane z allelem T jest zależne od płci żeńskiej.¹²⁵

W dalszych badaniach stwierdzono, że polimorfizm M235T genu AGT nie bezpośrednio determinuje stężenia AGT w osoczu, lecz pozostaje w ścisłym, 98 % sprzężeniu z innym polimorfizmem tego genu (G-6A), położonym w regionie promotorowym 6 nukleotydów od miejsca inicjacji transkrypcji, a polegającym na zastąpieniu w allelu 235T guaniny przez adeninę (-6A). Obecność adeniny ułatwia przyłączenie odpowiednich czynników transkrypcyjnych, co prowadzi do nasilenia transkrypcji genu, a w konsekwencji do wzrostu poziomu AGT w osoczu.^{86;110} W części doniesień wykazano związek allelu -6A ze wzrostem ryzyka rozwoju nadciśnienia tętniczego^{126;127}, jednakże wielośrodkowe badanie NHLBI, obejmujące rodziny z populacji ogólnej reprezentatywne dla różnych grup rasowych, nie potwierdziło powyższej asocjacji.¹⁰⁹ W najnowszym badaniu, przeprowadzonym przez Sethi i wsp. wykazano, iż allel -6A wiąże się z ryzykiem rozwoju nadciśnienia jedynie w grupie kobiet, zwłaszcza w grupie postmenopauzalnej przyjmującej hormonalną terapię zastępczą¹¹⁰, co potwierdza wcześniejsze doniesienia.¹²⁵

Związek omawianych polimorfizmów genu AGT z ryzykiem powikłań sercowo-naczyniowych oraz z rozwojem zmian narządowych (obejmującym między innymi usztywnienie ścian dużych naczyń tętniczych) był szeroko analizowany w wielu populacjach.^{93;128}

Część doniesień, oceniających wpływ polimorfizmu M235T na parametry usztywnienia ścian dużych tętnic, nie wykazało związku pomiędzy nosicielstwem allelu T a wzrostem wartości IMT^{129;130}, PWV¹¹⁸ bądź CTK tętna.^{125;131} Jednakże najnowsze badania, przeprowadzone przy zastosowaniu czułych, automatycznych metod pomiarowych, w grupie osób z nigdy nie leczonym nadciśnieniem tętniczym, wykazały związek homozygot TT polimorfizmu M235T z istotnie wyższymi wartościami IMT¹³² oraz redukcją rozszerzalności i wzrostem sztywności (ocenianym przy zastosowaniu współczynnika elastyczności Younga)¹³¹ ścian tętnicy szyjnej wspólnej w porównaniu z homozygotami MM.

Polimorfizm G-6A również został poddany analizie pod kątem przebudowy ścian naczyń tętniczych. W badaniu przeprowadzonym w populacji australijskiej Chapman i wsp. wykazali, iż obecność allelu -6A wiązała się ze wzrostem grubości IMT tętnicy szyjnej wspólnej wśród kobiet, lecz nie w populacji ogólnej i wśród

mężczyzn. Wykazano ponadto, iż związek ten był zależny od wieku oraz był znacznie silniejszym czynnikiem ryzyka wzrostu grubości IMT niż stosunek talia/biodra, frakcja LDL cholesterolu, palenie tytoniu i CTK rozk.¹³³ Jednakże w populacjach włoskiej i duńskiej, w grupach ogólnych oraz u obu płci analizowanych oddzielnie nie stwierdzono związku pomiędzy polimorfizmem G-6A a IMT¹³⁴ oraz CTK tętna.¹¹⁰

Polimorfizm D/I genu konwertazy angiotensyny I (ACE)

Liczne badania, analizujące wpływ polimorfizmu D/I na predyspozycję do rozwoju nadciśnienia tętniczego, powikłań sercowo-naczyniowych oraz na parametry usztywnienia ścian dużych tętnic, dostarczyły rozbieżnych wyników. Część badaczy uważa, iż u nosicieli allelu D brak 13-nukleotydowego miejsca wiążącego białko regulatorowe, które hamuje ekspresję genu, predysponuje do rozwoju nadciśnienia i jego powikłań. Natomiast inni autorzy wskazują na niekorzystną rolę allelu I, który może pozostawać w ścisłym sprzężeniu z innym, ważnym funkcjonalnie polimorfizmem genu ACE.¹²⁸

Część badań nie wykazała istotnego związku pomiędzy polimorfizmem D/I genu ACE a wysokością ciśnienia tętniczego¹³⁵, część wskazała na rolę allelu I^{136;137}, a pozostała na wpływ allelu D⁹³, zwłaszcza w grupie mężczyzn^{138;139} [czego jednakże nie obserwowano w analizowanej populacji, gdzie ryzyko względne rozwoju nadciśnienia u mężczyzn w zależności od genotypu ACE (DD vs II) wynosiło 1.22 (95 % CI: od 0.52 do 2.86; p=0.64)]. Podjęto również próbę łącznej analizy dostępnych prac badawczych, poruszających problematykę związku polimorfizmu D/I z nadciśnieniem tętniczym. W metaanalizie obejmującej 49 959 osób, Staessen i wsp. nie stwierdzili zależności pomiędzy polimorfizmem D/I genu ACE a nadciśnieniem¹¹², co znalazło potwierdzenie w nowszym opracowaniu Agerholm-Larsen i wsp., obejmującym grupę 32 715 osób rasy kaukaskiej.¹⁴⁰

Także badania oceniające związek polimorfizmu D/I z ryzykiem sercowo-naczyniowym nie dostarczyły jednoznacznych danych.^{79;93}

Wśród doniesień analizujących wpływ polimorfizmu D/I na wskaźniki usztywnienia ścian naczyń największą uwagę poświęcono parametrowi IMT. Część badań wskazała na związek allelu D ze wzrostem grubości kompleksu IMT w tętnicy szyjnej wspólnej¹¹³, część go nie potwierdziła^{141;142}, a jedno badanie wskazało na asocjację allelu I.¹⁴³ Również w odniesieniu do innych wskaźników remodelingu naczyniowego uzyskane dane nie są jednoznaczne. Wartości szyjno-udowe PWV

analizowano pod kątem związku z polimorfizmem D/I genu ACE w grupie osób z nadciśnieniem tętniczym^{118;121}, cukrzycą typu 2¹⁴⁴ oraz w populacji ogólnej.¹⁴⁵ W badaniu Benetosa i wsp., przeprowadzonym w grupie osób normotensyjnych, nie wykazano związku pomiędzy polimorfizmem D/I a PWV, natomiast w grupie osób ze świeżo rozpoznany nadciśnieniem wartość PWV istotnie statystycznie wzrastała wraz z liczbą alleli I.¹²¹ Podobnie w grupie osób z cukrzycą typu 2 wykazano istotnie statystycznie ($p < 0.001$) większą wartość PWV u homozygot II, w porównaniu z homozygotami DD (z pośrednią wartością u heterozygot DI), czego nie obserwowano w grupie kontrolnej.¹⁴⁴ Jednakże najnowsze badania, przeprowadzone w próbie populacji ogólnej uczestniczącej w badaniu Rotterdam¹⁴⁵ oraz u pacjentów z nieleczonym nadciśnieniem¹¹⁸, nie potwierdziły tego związku.

Związek polimorfizmu D/I z kolejnymi wskaźnikami remodelingu, takimi jak obecność płytek miażdżycowych w ścianie tętnicy szyjnej^{120;146}, rozszerzalnością^{144;145} i podatnością¹⁴⁷ ściany tętnicy szyjnej oraz wartościami CTK tętna^{99;148} i CTK tętna_a⁹⁹, również nie jest jednoznaczny. W badaniu Safara i wsp., zależność pomiędzy polimorfizmem D/I genu ACE a ciśnieniem tętna poddano analizie w grupie 469 pacjentów z nadciśnieniem, nie stwierdzając u obu płci istotnej statystycznie zależności pomiędzy CTK tętna a analizowanym polimorfizmem. W grupie mężczyzn przed 50 rokiem życia stwierdzono jednakże, iż zależność pomiędzy CTK tętna a wiekiem podlega wpływowi analizowanego polimorfizmu, z zaznaczonym niekorzystnym wpływem allelu D.¹⁴⁸ Również w najnowszym badaniu, przeprowadzonym w ramach wielośrodkowego programu EPOGH, obejmującym rodziny nuklearne z 3 europejskich populacji, nie wykazano związku pomiędzy polimorfizmem D/I a CTK tętna, CTK tętna_a, AIx_o oraz AIx_a w całej badanej grupie oraz u rodziców i dzieci.⁹⁹

Badania przeprowadzone w wielu populacjach wykazały brak wpływu analizowanego oddzielnie polimorfizmu D/I genu ACE na wartości ciśnień tętniczych oraz na parametry usztywnienia ścian naczyń. Niewątpliwie jednak polimorfizm ów wykazuje aktywność funkcjonalną, dlatego niezwykle istotne wydaje się być uwzględnienie dodatkowych czynników, genetycznych oraz środowiskowych, które poprzez interakcje z analizowanym polimorfizmem mogą wpływać na jego ekspresję i łącznie predysponować do rozwoju nadciśnienia tętniczego.

Polimorfizm A1166C genu receptora AT₁ dla AG II (AT1R)

W obrębie genu kodującego typ 1 receptora dla AG II zidentyfikowano kilka alleli różniących się w swojej sekwencji jedynie pojedynczymi nukleotydami, z których jeden - transwersja adeniny na cytozynę w pozycji 1166 (A1166C) w obrębie regionu nie podlegającego translacji na końcu 3' genu, może pozostawać w ścisłym sprzężeniu z innym polimorfizmem, modyfikującym wrażliwość na naczynioskurczowe działanie AG II.¹²⁸

Szereg badań przeprowadzonych w różnych populacjach wskazało, iż obecność allelu C genu AT1R predysponuje do rozwoju nadciśnienia tętniczego, choć część doniesień nie potwierdziła tej zależności, a dalsze wskazały na przeciwny trend.⁹³

Również wpływ omawianego polimorfizmu na parametry usztywnienia ścian dużych naczyń tętniczych nie jest jednoznaczny. W badaniach przeprowadzonych przez Benetosa i wsp. w grupie z nadciśnieniem, obecność allelu C niezależnie od poziomu ciśnienia tętniczego i wieku wiązała się z ocenianą przy użyciu wskaźnika PWV podwyższoną sztywnością aorty, nasilała wpływ wieku na usztywnienie ścian tętnic oraz wpływała na większą regresję sztywności pod wpływem leczenia farmakologicznego.^{121;149} Kolejne badanie w grupie osób z nie leczonym nadciśnieniem, potwierdziło związek allelu C z podwyższonymi wartościami PWV w porównaniu z homozygotami AA.¹¹⁸ Jednakże najnowsze doniesienie Gardiera i wsp. pozostaje w sprzeczności z powyższymi badaniami, wskazując na związek allelu A ze wzrostem wartości PWV w grupie hipertoniców¹⁵⁰, najprawdopodobniej wskutek zaburzeń regulacji procesu syntezy i degradacji kolagenu typu I z jego odkładaniem w ścianach naczyń.¹⁵¹ Analizy dotyczące innych parametrów usztywnienia ścian naczyń, takich jak grubość kompleksu IMT^{120;133} oraz CTK tętna₂₄¹⁵⁰, nie stwierdziły istotnie statystycznej asocjacji pomiędzy analizowanymi parametrami a polimorfizmem A1166C genu AT1R. Jedynie słabą zależność pomiędzy homozygotami CC a podwyższonym CTK tętna wykazano w podgrupie białych Amerykanów, czego nie potwierdzono w podgrupie Afroamerykanów.¹⁵²

Wpływ sodu na ciśnienie tętnicze i proces przebudowy naczyniowej

W populacjach krajów wysoko rozwiniętych, wśród których częstość występowania nadciśnienia tętniczego jest znacznie większa niż w populacjach nieuprzemysłowionych, uwagę zwracają między innymi znaczące różnice dotyczące ilości spożywanej w diecie soli kuchennej.¹ Największą próbą kliniczną, oceniającą między innymi ilość spożywanej soli kuchennej wśród wielu populacji było badanie INTERSALT, przeprowadzone w 32 krajach na całym świecie u ponad 10 000 dorosłych osób w wieku od 20 do 59 lat. Wszystkie biorące udział w badaniu ośrodki stosowały wystandardyzowaną metodę oznaczania dobowego wydalania sodu i potasu z moczem. Wydalanie sodu wśród poszczególnych grup pacjentów było bardzo zróżnicowane i wahało się od 0.2 mmol/dobę do 242 mmol/dobę, co wskazało na istnienie dużego zróżnicowania pomiędzy badanymi populacjami.¹⁵³ Dobowe wydalanie sodu z moczem, analizowane w próbkach populacji, w sposób adekwatny odzwierciedla ilość sodu przyjmowanego w diecie.¹⁰²

Informacje dotyczące niekorzystnego wpływu nadmiernej ilości soli kuchennej na rozwój nadciśnienia tętniczego pochodzą z badań przeprowadzonych w modelach zwierzęcych oraz z badań epidemiologicznych. U szympanów, spożywających dietę wegetariańską z bardzo niską zawartością sodu i potasu, zwiększenie ilości soli w diecie do 10-15 g/dobę przez okres 20 miesięcy wiązało się ze wzrostem CTK sk o 33 mmHg.¹⁵⁴ Również wyniki badań epidemiologicznych wyraźnie wskazały na istnienie dodatniej korelacji pomiędzy ilością spożywanego sodu a skurczowym (lecz nie rozkurczowym) ciśnieniem tętniczym.^{155;156} W niedawno opublikowanym badaniu du Cailara i wsp. wykazano także, że wzrost konsumpcji sodu wiąże się w sposób niezależny ze wzrostem CTK tętna.²⁰

Z drugiej strony, zmniejszenie spożycia sodu prowadzi do obniżenia CTK sk oraz CTK tętna, zwłaszcza w grupie osób w podeszłym wieku z izolowanym nadciśnieniem skurczowym.¹⁵⁶ Opublikowana w 1998 roku metaanaliza Graudala i wsp., uwzględniająca 56 badań klinicznych, wykazała iż redukcja spożycia soli u osób nadciśnieniem (określona poprzez zmniejszenie wydalania sodu z moczem o 100 mmol/l) istotnie statystycznie wiązała się ze spadkiem ciśnienia skurczowego o 3.7 mmHg, a ciśnienia rozkurczowego 0.9 mmHg. Jednakże u osób normotensyjnych efekt ten był istotny jedynie dla ciśnienia skurczowego.¹⁶ Wpływ stosowanej diety na poziom ciśnienia krwi oceniano w badaniach DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension)¹⁷ oraz TOHP (The Trials of Hypertension Prevention).¹⁵⁷ Powyższe

badania w sposób jednoznaczny wskazały, iż do obniżenia ciśnienia krwi niezbędne jest ograniczenie spożycia zarówno soli kuchennej, jak również kaloryczności posiłków, poprzez zmniejszenie spożycia tłuszczów nasyconych.

Przez długi czas uważano, że zwiększone stężenie sodu w surowicy krwi prowadzi do wzrostu ciśnienia tętniczego jedynie poprzez wzrost objętości krążącej krwi (efekt krótko-czasowy) oraz poprzez wzrost oporności naczyniowej, odzwierciedlający zmiany w strukturze i funkcji arterioli (efekt długo-czasowy). Jednakże w ostatnich latach badania z zakresu nauk podstawowych oraz badania populacyjne dostarczyły licznych dowodów, iż poprzez efekty niezależne od ciśnienia tętniczego, sód zawarty w pożywieniu może przyczyniać się do powikłań narządowych w układzie sercowo-naczyniowym i w nerkach.¹⁵⁸

Przebudowa ścian dużych tętnic, oceniana w modelach zwierzęcych i u ludzi, związana jest głównie z pogrubieniem warstwy mięśniowej oraz ze zmianami ilościowymi i strukturalnymi w zakresie włókien kolagenu i elastyny. El-taouil i wsp. w badaniu przeprowadzonym na szczurach z samoistnym nadciśnieniem tętniczym (SHR) stwierdzili, że dieta o dużej zawartości sodu prowadziła do zmniejszenia zawartości hialuronianu oraz przerostu warstwy mięśniowej aorty, co niezależnie od średniego ciśnienia tętniczego oraz zmian w zakresie włókien kolagenu i elastyny, wpłynęło na spadek podatności ścian dużych tętnic.¹⁵⁹ Także inne badania przeprowadzone u SHR wykazały, iż wzrost zawartości sodu w diecie wiązał się z hipertrofią sercowo-naczyniową nie tylko poprzez wzrost grubości błony środkowej, lecz również wskutek zwiększenia zewnątrzkomórkowej zawartości elastyny i kolagenu w ścianie aorty.^{160;161}

U ludzi, w pionierskich badaniach przeprowadzonych w populacji chińskiej, Avolio i wsp. wykazali, iż zwiększone spożycie soli kuchennej (13.3 g NaCl/dobę vs 7.3 g NaCl/dobę) wiązało się z istotnie większym usztywnieniem ściany aorty, ocenianym przy zastosowaniu metody PWV, niezależnie od wieku i ciśnienia tętniczego.¹⁶² Kolejne badanie tego samego autora, przeprowadzone w normotensyjnej populacji osób rasy kaukaskiej, potwierdziło wcześniejsze doniesienie.¹⁶³

Biorąc pod uwagę bardzo wysokie spożycie soli kuchennej w analizowanej populacji, mające odbicie w dobowym wydalaniu sodu z moczem wynoszącym 241.4 ± 84.1 mmol/l (który to wynik praktycznie pokrywa się z najwyższą wartością 24-godzinnego wydalania sodu z moczem uzyskaną w badaniu INTERSALT)¹⁵³, można

stwierdzić, iż populacja regionu krakowskiego w znacznym stopniu narażona jest na rozwój nadciśnienia tętniczego oraz na przebudowę ścian naczyń tętniczych związaną z nadmiernym spożyciem soli kuchennej. Narażenie to wydaje się być jednak modyfikowane, zwłaszcza poprzez czynniki genetyczne oraz dodatkowe czynniki środowiskowe.

Związek pomiędzy układem RAA a zawartością sodu w diecie oraz ich wpływ na ciśnienie tętnicze i usztywnienie ścian tętnic

AG II oraz aldosteron są hormonami efektorowymi układu RAA, odgrywającego kluczową rolę w regulacji gospodarki wodno-elektrolitowej i kwasowo-zasadowej, modulacji aktywności układu sympatycznego, w patogenezie nadciśnienia tętniczego oraz w procesie remodelingu serca i dużych naczyń tętniczych.^{73;74} W naczyniach krwionośnych układ RAA jest regulatorem stanu napięcia mięśniówki gładkiej, poprzez stymulację uwalniania zarówno substancji wazopresyjnych (endotelina), jak i naczyniorozkurczowych (tlenek azotu, prostacyklina). Poprzez aktywację receptorów AT₁ w miocytach naczyniowych, AG II wykazuje bezpośrednie działanie wazokonstrykcyjne, pobudzające uwalnianie noradrenaliny z zakończeń presynaptycznych oraz indukujące ekspresję protoonkogenów i płytkowego czynnika wzrostu (PDGF). W sposób bezpośredni oraz poprzez stymulację miejscowej sekrecji aldosteronu, AG II wywiera silny wpływ na procesy przerostu, włóknienia oraz nekrozy. W ten sposób AG II może być przyczyną rozrostu i przerostu miocytów, wpływając tym samym na wzrost oporu naczyń krwionośnych oraz nasilenie procesów miażdżycowych.^{74;164;165}

Prócz krążących we krwi (endokrynnych) składowych układu RAA, w ostatnim czasie stwierdzono istnienie lokalnych, działających parakrynnie i autokrynnie, tkankowych układów renina-angiotensyna, zlokalizowanych między innymi w sercu, naczyniach krwionośnych, nerkach, nadnerczach oraz mózgu.^{75;76} Osoczowy układ RAA ściśle wiąże się z funkcją aparatu przykłębuszkowego nerek, natomiast układy tkankowe podlegają regulacji w sposób niezależny od układu krążącego.⁷⁷ Uważa się, iż systemowy układ RAA odgrywa rolę w krótkoterminowej regulacji czynności układu sercowo-naczyniowego, natomiast miejscowe układy RAA uczestniczą raczej w regulacji długoterminowej.⁷⁸ Potwierdza to panujący obecnie pogląd, iż w procesie

przebudowy układu sercowo-naczyniowego kluczową rolę odgrywa miejscowa synteza AG II w tkankach.⁷³

Wpływ czynników środowiskowych, takich jak ilość spożywanej w diecie soli kuchennej oraz polimorfizmów genetycznych genów układu RAA na ciśnienie tętnicze oraz procesy przebudowy układu sercowo-naczyniowego, analizowanych oddzielnie oraz łącznie, budzi wciąż wiele zainteresowania i jest tematem licznych prac badawczych.

Wpływ soli kuchennej na aktywność ACE, stężenie AG II oraz na ekspresję polimorfizmów układu RAA, w odniesieniu do wartości ciśnienia tętniczego oraz procesów przebudowy, jest nie do końca poznany. Część badaczy uważa, iż osoczowa aktywność ACE nie zmienia się pod wpływem wahań podaży soli.¹⁶⁶ Bardzo ciekawe dane uzyskano w badaniu Schmiedera i wsp., przeprowadzonym w grupie osób z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym, gdzie analizie poddano zależność pomiędzy spożyciem soli (ocenianym jako dobowe wydalanie sodu z moczem) a osoczym stężeniem AG II, w odniesieniu do parametrów przebudowy mięśnia sercowego. W analizowanej populacji wykazano zależność polegającą na obniżeniu osoczowego stężenia AG II pod wpływem zwiększonej podaży soli kuchennej. Uwzględniając powyższą zależność, badaną grupę podzielono na tercyle w oparciu o względnie wysokie, średnie oraz niskie stężenie AG II w surowicy krwi w odniesieniu do odpowiadającego im dobowego wydalania sodu z moczem. Uzyskane wyniki wskazały, iż osoby z nieadekwatnie wysokim (w odniesieniu do dobowej podaży soli) osoczym stężeniem AG II charakteryzowały się istotnie statystycznie większymi parametrami przerostu lewej komory, a opisana dysregulacja w zakresie osoczowego układu RAA mogła wiązać się z procesami przerostu i przebudowy w zakresie układu sercowo-naczyniowego.¹⁶⁷

Wśród analizowanych polimorfizmów największą uwagę oraz najwięcej interesujących danych uzyskano dla polimorfizmu D/I genu ACE. Liczne badania dostarczyły jednoznacznych informacji dotyczących związku polimorfizmu D/I ze stężeniem enzymu konwertującego, wykazując istnienie silnej, dodatniej korelacji pomiędzy obecnością allelu D a osoczym^{90;168}, wewnątrz-limfocytarnym¹⁶⁹ oraz wewnątrz-tkankowym¹⁷⁰ stężeniem ACE. Osoczowe stężenie ACE jest o około 60 % wyższe u homozygot DD niż u homozygot II, przyjmując wartości pośrednie dla

heterozygot. W badaniach Uedy i wsp.¹⁷¹ oraz Browna i wsp.¹⁷² wykazano, iż dożylna infuzja AG I wiązała się z istotnie większym wzrostem stężenia AG II we krwi u homozygot DD, w porównaniu z homozygotami II, co pośrednio potwierdza obecność podwyższonego stężenia osocznego ACE u homozygot DD. Część badaczy uważa, iż wzrost stężenia ACE w surowicy krwi i w tkankach może predysponować do nasilenia konwersji angiotensyny I do angiotensyny II, skutkującej nasileniem wazokonstrykcji i procesów przebudowy komórek.¹⁷³

W badanej populacji regionu krakowskiego uzyskano dane świadczące o ochronnym wpływie allelu D polimorfizmu D/I genu ACE na rozwój nadciśnienia oraz na procesy przebudowy ścian tętnic. Wykazano, iż efekt ten uwarunkowany jest interakcją zachodzącą pomiędzy polimorfizmem D/I a czynnikiem środowiskowym - zawartością sodu w diecie. W trzecim tercylu dobowego wydalania sodu z moczem, w grupie homozygot II, w porównaniu z nosicielami allelu D, obserwowano istotnie wyższe wartości ciśnień skurczowych i ciśnień tętna (uzyskanych metodą konwencjonalną, podczas 24-godzinnej zapisu i metodą analizy fali tętna) oraz wyższe wskaźniki usztywnienia ścian dużych tętnic, czego nie obserwowano w pierwszym i drugim tercylu wydalania sodu.

Związek polimorfizmu D/I z sodowrażliwością ciśnienia tętniczego analizowano w wielu populacjach. W grupie sodo-wrażliwych, japońskich pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym, w porównaniu z osobami sodo-niewrażliwymi, wykazano istotnie statystycznie większą częstość występowania allelu I. Stwierdzono także, iż genotyp II, w porównaniu z genotypami DD i DI, w sposób istotny zwiększał ryzyko sodowrażliwości ciśnienia tętniczego.¹⁷⁴ W grupie nadciśnieniowych, hiszpańskich pacjentów uzyskano zbieżne dane. Podczas spożywania diety z wysoką zawartością sodu wykazano ponadto istotnie wyższy wzrost wartości dobowego skurczowego (9.8 ± 8.1 vs 1.2 ± 5.9 ; $p=0.01$) i rozkurczowego (-0.2 ± 4.2 vs 5.2 ± 4.2 ; $p=0.03$) ciśnienia krwi u homozygot II, w porównaniu z homozygotami DD, z pośrednim wzrostem ciśnień w grupie heterozygot.¹⁷⁵ Ten sam zespół badaczy w większej grupie badanych osób potwierdził wcześniejsze doniesienie.¹⁷⁶ Istnieją jednakże pojedyncze prace, które nie wykazały związku pomiędzy polimorfizmem D/I genu ACE a sodowrażliwością ciśnienia¹⁷⁷, bądź nawet wskazały na rolę allelu D.¹⁷⁸

Pomimo iż w dostępnym piśmiennictwie brakuje danych dotyczących łącznego wpływu polimorfizmu D/I genu ACE i sodu na parametry usztywnienia ścian naczyń,

wyniki zbieżne z uzyskanymi dla ciśnień tętniczych otrzymano dla parametrów przerostu lewej komory. W badaniu obejmującym rodziny nuklearne, będącym częścią wielośrodkowego programu EPOGH Kuznetsova i wsp. wykazali, iż zależność pomiędzy polimorfizmem D/I genu ACE a wskaźnikiem masy lewej komory różniła się pomiędzy populacjami europejskimi, najprawdopodobniej wskutek odmiennych mechanizmów regulacyjnych uwarunkowanych różnicami w zawartości soli w diecie, ocenianej w oparciu o wynik 24-godzinnej zbiórki moczu (Słowianie 229 mmol/dobę vs Włosi 186 mmol/dobę). Stwierdzono, że w ogólnej populacji Słowian (Polacy i Rosjanie) w porównaniu z Włochami, wskaźnik masy lewej komory był istotnie wyższy u homozygot II, podczas gdy przeciwny trend obserwowano w populacji włoskiej. Ponadto wśród potomstwa obu populacji zaobserwowano bardzo ciekawą zależność, polegającą na wzroście wskaźnika masy lewej komory u homozygot II wraz ze wzrostem spożycia sodu, co jest zbieżne z wynikami uzyskanymi w analizowanej populacji.⁹⁷

Wykazany w analizowanej populacji ochronny wpływ współistnienia allelu D genu ACE na proces usztywnienia ścian dużych tętnic przy wysokim spożyciu sodu w diecie, wynika najprawdopodobniej z faktu, iż wraz z ilością posiadanych alleli I dochodzi do upośledzenia plastyczności układu RAA, co manifestuje się upośledzeniem spadku stężenia AG II w surowicy i tkankach w odpowiedzi na wzrost obciążenia sodem. Wyniki badania potwierdzają więc tezę, iż ekspresja polimorfizmu D/I genu ACE w znaczącej mierze zależy od wpływu dodatkowych czynników modulujących, w tym między innymi zawartości sodu w diecie.

Zależności pomiędzy polimorfizmami genetycznymi układu RAA

W związku z brakiem jednoznacznych danych wynikających z analiz związku pojedynczych polimorfizmów układu RAA z wartościami ciśnień tętniczych i parametrami przebudowy naczyń, coraz częściej ukazują się doniesienia analizujące łączny efekt fenotypowy polimorfizmów genetycznych.⁸

W badanej grupie przeprowadzono analizy, dotyczące wzajemnego wpływu polimorfizmów G-6A genu AGT, D/I genu ACE oraz A1166C genu AT1R na parametry ciśnieniowe i usztywnienia ścian tętnic. Interakcje pomiędzy polimorfizmami G-6A a D/I, G-6A a A1166C oraz pomiędzy trzema polimorfizmami ocenianymi łącznie, nie wykazały istotnie statystycznej znamienności dla parametrów ciśnieniowych oraz usztywnienia. Jednakże interakcje pomiędzy polimorfizmami D/I a A1166C, w odniesieniu do parametrów ciśnienia skurczowego i tętna (lecz nie wskaźników przebudowy ścian naczyń), osiągnęły wartości istotne statystycznie, wskazując na łączny, niekorzystny wpływ alleli I i C.

W piśmiennictwie istnieje szereg prac analizujących interakcje polimorfizmów genu AGT z polimorfizmami D/I i A1166C, w kontekście ich wzajemnego wpływu na parametry ciśnieniowe i przebudowy naczyniowej.

W badaniu Sianiego i wsp., przeprowadzonym w ramach Olivetti Heart Study, wykazano łączny związek polimorfizmów M235T genu AGT, D/I genu ACE, A1166C genu AT1R oraz C-344T genu CYP11B2 z rozwojem nadciśnienia, na skutek zwiększonej nerkowej reabsorpcji sodu z moczu.¹⁷⁹ Jednakże w badaniu japońskim¹⁸⁰, obejmującym 1 476 osób oraz w ostatnio opublikowanym badaniu przeprowadzonym w grupie 1 358 osób z populacji niemieckiej¹⁸¹, w których analizowano wzajemne zależności omawianych polimorfizmów genów AGT i ACE oraz AGT i AT1R, nie stwierdzono związku żadnej z analizowanych kombinacji genetycznej z predyspozycją do rozwoju nadciśnienia.

Również w odniesieniu do parametrów usztywnienia ścian tętnic analizowano interakcje pomiędzy omawianymi polimorfizmami układu RAA. Badania przeprowadzone w populacjach włoskiej¹⁸² oraz japońskiej¹⁸³ dostarczyły rozbieżnych danych. W badaniu przeprowadzonym w populacji europejskiej¹⁸², opisano synergizm działania alleli T genu AGT, D genu ACE oraz C genu AT1R na wzrost grubości IMT w tętnicy szyjnej wspólnej, podczas gdy wśród nieleczonych osób z populacji

japońskiej¹⁸³ nie wykazano istotnej statystycznie interakcji pomiędzy trzema ocenianymi polimorfizmami a grubością IMT. Ponadto we wspomnianym powyżej badaniu japońskim¹⁸³ oraz w doniesieniach amerykańskim¹²⁹ i australijskim¹³³ nie wykazano znamiennego wpływu polimorfizmów M235T i D/I na grubość kompleksu IMT.

W badaniu przeprowadzonym w populacji australijskiej, Chapman i wsp. wskazali dodatkowo na współdziałanie allelu G polimorfizmu G-A6 genu AGT oraz allelu I polimorfizmu D/I, przy braku interakcji pomiędzy polimorfizmami G-6A a A1166C na wzrost wartości IMT.¹³³ Obecności powyższej interakcji nie potwierdzono jednakże w analizowanej populacji regionu krakowskiego, zarówno dla parametrów ciśnieniowych, jak i dla wskaźników usztywnienia ścian tętnic.

W wielu populacjach ocenie poddano również zależności pomiędzy polimorfizmami D/I genu ACE i A1166C genu AT1R.

Największą pracą, przedstawiającą łączny wpływ wymienionych powyżej polimorfizmów genetycznych na rozwój nadciśnienia, było przeprowadzone w populacji włoskiej badanie GENIPER. Objęło ono 2 461 osób z 13 ośrodków badawczych i wskazało na brak łącznego związku polimorfizmów D/I i A1166C z rozwojem nadciśnienia.¹⁸⁴ Zbieżne wyniki uzyskano także w populacjach japońskiej¹⁸⁰ oraz w badaniu przeprowadzonym wśród mężczyzn, pracowników Portu Gdańskiego.¹¹⁴ Dane uzyskane w prezentowanym badaniu, wskazujące na istnienie interakcji polimorfizmów D/I i A1166C, z niekorzystnym wpływem alleli I i C na uzyskane metodą konwencjonalną, podczas 24-godzinnego pomiaru oraz metodą analizy fali tętna wartości ciśnień skurczowych oraz ciśnień tętna u osób z wysokim spożyciem sodu w diecie, wymagają potwierdzenia w dalszych badaniach, w związku z brakiem tego typu analiz w dostępnym piśmiennictwie.

Nieliczne badania związane ze współdziałaniem analizowanych polimorfizmów na parametry przebudowy ścian tętnic, przeprowadzone w populacjach rasy kaukaskiej¹³³ oraz żółtej¹⁸³, nie wskazały na obecność znamiennej interakcji pomiędzy polimorfizmami D/I i A1166C a IMT w tętnicy szyjnej.

Wnioski

1. Częstość występowania alleli i genotypów polimorfizmów G-6A genu AGT, D/I genu ACE oraz A1166C genu AT1R w populacji rodzin regionu krakowskiego jest zbliżona do obserwowanych w innych populacjach europejskich, co wskazuje, iż uzyskane wyniki można ekstrapolować na inne populacje europejskie.

2. Polimorfizm D/I genu ACE, w odróżnieniu od polimorfizmów G-6A genu AGT i A1166C genu AT1R, wykazuje istotny wpływ na wybrane parametry ciśnieniowe oraz przebudowy ścian tętnic. Homozygotyczność w zakresie allelu D w porównaniu z homozygotami II współistnieje z istotnie niższymi wartościami aortalnego ciśnienia skurczowego i ciśnienia tętna w populacji ogólnej, w podgrupach rodziców i dzieci oraz dobowego ciśnienia skurczowego i ciśnienia tętna w podgrupie rodziców, z pośrednimi wartościami w grupie heterozygot. Wykazane zależności przemawiają za dominującym modelem efektu fenotypowego polimorfizmu D/I genu ACE w populacji rodzin regionu krakowskiego.

3. W badanej populacji, w odniesieniu do parametrów ciśnieniowych oraz usztywnienia ścian tętnic, istnieją statystycznie istotne interakcje pomiędzy polimorfizmem D/I genu ACE a dobowym wydalaniem sodu z moczem, wskazujące na ochronną rolę allelu D w grupie osób z wysokim dobowym spożyciem sodu. Powyższy związek nie występuje w odniesieniu do polimorfizmów G-6A genu AGT i A1166C genu AT1R

4. Interakcje pomiędzy polimorfizmami D/I genu ACE i A1166C genu AT1R osiągnęły znamienność statystyczną dla parametrów ciśnienia skurczowego i ciśnienia tętna, i wskazują na łączne działanie obu polimorfizmów, z niekorzystnym wpływem alleli I i C.

Streszczenie pracy

Wprowadzenie

Pierwotne nadciśnienie tętnicze jest złożonym, wielo-przyczynowym zespołem klinicznym o niejednorodnej etiopatogenezie, w której udział biorą między innymi uwarunkowania środowiskowe, genetyczne, hormonalne oraz zapalne. Obok procesu starzenia się, nadciśnienie tętnicze jest najbardziej uznanym czynnikiem przebudowy ścian dużych tętnic. Niejednorodność etiopatogenezy oraz zróżnicowanie obrazu klinicznego nadciśnienia w dużej mierze uwarunkowane są sumowaniem się efektów działania licznych genów, tzw. genów kandydujących. Obecnie uważa się, iż pierwotne nadciśnienie tętnicze ma podłoże wielogenowe i jest wynikiem skumulowanego oddziaływania większej liczby genów oraz środowiska, a jedynie w rzadkich przypadkach wynika z mutacji w obrębie pojedynczego genu. W ciągu ostatnich lat opublikowano wiele badań analizujących powiązania różnych genów z wartościami ciśnień tętniczych i parametrami przebudowy ścian tętnic.

Celem pracy było określenie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów polimorfizmów G-6A genu AGT, D/I genu ACE oraz A1166C genu AT1R w populacji rodzin regionu krakowskiego oraz u osób z prawidłowym ciśnieniem i z nadciśnieniem tętniczym. Ponadto, w oparciu o analizę asocjacji oraz analizę rodzin, podjęto próbę ustalenia związku analizowanych polimorfizmów z wartościami ciśnień tętniczych i z parametrami usztywnienia ścian dużych tętnic, a także ocenę zależności pomiędzy czynnikami genetycznymi, środowiskowymi i płcią i ich łącznego wpływu na parametry ciśnieniowe i przebudowy tętnic.

Metodyka

Badania przeprowadzono w ramach europejskiego projektu badawczego, dotyczącego wpływu wybranych genów na własności elastyczne ścian dużych naczyń tętniczych – *A Polish-Flemish population study on the role of candidate genes in the determination on the wall characteristics of the central arteries*, w którym uczestniczyły trzy kraje europejskie. W Polsce, za zgodą Komisji Bioetycznej, program realizowany był przez Katedrę Chorób Wewnętrznych i Gerontologii i I Klinikę Kardiologii CM UJ.

Badaną populację stanowiły rodziny losowo wybrane z terenu miasta i gminy Niepołomice, które wyraziły zgodę na uczestnictwo w badaniach. Badaniem objętych zostało 55 rodzin tj. 206 osób – 120 kobiet i 86 mężczyzn. Zakwalifikowane do programu rodziny musiały spełniać następujące kryteria struktury rodziny – co najmniej

jeden z rodziców i dwoje dzieci oraz wieku – wszystkie osoby pomiędzy 18 a 60 rokiem życia.

Każda z badanych osób otrzymała do wypełnienia standardowy kwestionariusz epidemiologiczny. U każdego uczestnika dokonano pięciokrotnego pomiaru ciśnienia tętniczego krwi przy użyciu sfigmomanometru rtęciowego w warunkach domowych, całodobowej rejestracji ciśnienia tętniczego krwi (aparat *SpaceLabs 90207*) oraz pomiarów własności elastycznych ścian dużych naczyń tętniczych, przy zastosowaniu metody analizy fali tętna (urządzenie *SphygmoCor*, wersja 6.31). Wśród osób uczestniczących w badaniu dokonano także ocenę pomiarów antropometrycznych oraz oznaczenia biochemiczne krwi, moczu i polimorfizmów wybranych genów układu RAA.

Wyniki

Rozkład częstości genotypów polimorfizmów G-6A genu AGT ($p=0.52$), D/I genu ACE ($p=0.57$) i A1166C genu AT1R ($p=0.89$) był zgodny z rozkładem przewidywanym według prawa Hardy-Weinberga i porównywalny z opisywanym w innych populacjach europejskich. Grupa osób z prawidłowymi wartościami ciśnienia nie różniła się w sposób istotny od grupy osób z nadciśnieniem, pod względem częstości występowania alleli ($0.25 \leq p \leq 0.92$) i genotypów ($0.36 \leq p \leq 0.89$) analizowanych polimorfizmów.

W analizie związku zmiennych fenotypowych z czynnikami genetycznymi, przeprowadzonej w populacji ogólnej oraz osobno dla każdej z grup pokoleniowych, nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy osobami należącymi do poszczególnych grup genotypowych w zakresie polimorfizmu G-6A genu AGT oraz pomiędzy homozygotami AA a nosicielami allelu C polimorfizmu A1166C genu AT1R, a wartościami ciśnień rozkurczowych ($0.06 \leq p \leq 0.91$), skurczowych ($0.14 \leq p \leq 0.96$) i ciśnień tętna ($0.07 \leq p \leq 0.99$), uzyskanych metodą konwencjonalną, podczas 24-godzinnego zapisu i metodą analizy fali tętna oraz wskaźnikami usztywnienia ścian tętnic ($0.08 \leq p \leq 0.98$).

Jednakże analizy przeprowadzone pomiędzy poszczególnymi genotypami polimorfizmu D/I genu ACE, wykazały istotnie niższe wartości CTK sk_a w populacji ogólnej (114.3 ± 0.8 vs 117.7 ± 1.2 mmHg; $p=0.02$), rodziców (124.7 ± 1.6 vs 130.3 ± 2.1 mmHg; $p=0.02$) i dzieci (104.8 ± 0.9 vs 107.6 ± 0.9 mmHg; $p=0.03$) oraz CTK sk₂₄ w podgrupie rodziców (120.0 ± 1.5 vs 124.0 ± 1.9 mmHg; $p=0.05$), u osób z genotypem DD, w porównaniu z osobami z genotypem II. Podobnie u osób z genotypem DD, w porównaniu z osobami z genotypem II, wykazano istotnie niższe wartości CTK

tętna_a w populacji ogólnej (31.2 ± 0.9 vs 35.7 ± 1.4 mmHg; $p=0.009$), rodziców (36.0 ± 1.3 vs 41.4 ± 2.3 mmHg; $p=0.05$) i dzieci (27.0 ± 1.2 vs 30.8 ± 1.2 mmHg; $p=0.02$) oraz CTK tętna₂₄ w podgrupie rodziców (44.7 ± 1.2 vs 48.4 ± 1.3 mmHg; $p=0.03$). W dalszych analizach, przeprowadzonych w populacji ogólnej i w podgrupach, nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy osobami należącymi do poszczególnych grup genotypowych w zakresie polimorfizmu D/I genu ACE a wartościami ciśnień rozkurczowych ($p \geq 0.18$) i parametrami usztywnienia ścian tętnic ($p \geq 0.10$).

Łączny wpływ czynników środowiskowych, takich jak ilość spożywanej w diecie soli kuchennej oraz polimorfizmów genetycznych genów układu RAA, na ciśnienie tętnicze oraz procesy przebudowy układu sercowo-naczyniowego, budzi wiele zainteresowania i jest tematem licznych prac badawczych. Dla polimorfizmów G-6A genu AGT (zakładany model dominujący efektu fenotypowego) i A1166C genu AT1R (zakładany model recesywny efektu fenotypowego), powyższa interakcja nie osiągnęła statystycznej znamienności w zakresie parametrów ciśnieniowych ($p \geq 0.10$) oraz sztywności ścian naczyń ($p \geq 0.13$). Jednakże w analizach przeprowadzonych w populacji ogólnej, dotyczących interakcji pomiędzy polimorfizmem D/I genu ACE (zakładany model dominujący efektu fenotypowego) a dobowym wydalaniem sodu z moczem, wykazano istotne statystycznie zależności w odniesieniu do CTK sk_a ($p=0.03$), CTK tętna_a ($p=0.01$), CTK tętna ($p=0.02$) oraz AG ($p=0.05$). W analizie asocjacji, przeprowadzonej pomiędzy parametrami ciśnieniowymi i usztywnienia ścian naczyń a polimorfizmem D/I w tercylach dobowego wydalania sodu z moczem, w grupie homozygot II w porównaniu z nosicielami allelu D, w trzecim tercylu wydalania sodu, obserwowano istotnie statystycznie wyższe wartości CTK sk_a (125.6 ± 2.6 vs 118.3 ± 1.4 mmHg, $p=0.02$), CTK tętna_a (42.2 ± 2.0 vs 33.5 ± 1.0 mmHg, $p=0.0001$), CTK tętna₂₄ (50.1 ± 1.1 vs 47.8 ± 0.8 mmHg, $p=0.005$) oraz CTK tętna (53.1 ± 1.8 vs 47.7 ± 1.4 mmHg, $p=0.0004$), czego nie obserwowano w pierwszym i drugim tercylu ($p \geq 0.14$). Podobnie, analizując parametry usztywnienia ścian tętnic w trzecim tercylu wydalania sodu, u homozygot II w porównaniu z nosicielami allelu D, stwierdzono istotnie statystycznie wyższe wartości AG (9.4 ± 1.2 vs 6.0 ± 0.6 mmHg, $p=0.02$) oraz wskaźnika AIx_a (20.1 ± 2.4 vs 16.1 ± 1.0 %, $p=0.07$). Powyższych zależności nie obserwowano w pierwszym oraz drugim tercylu dobowego wydalania sodu ($p \geq 0.28$).

W badanej populacji przeprowadzono także analizy dotyczące wzajemnego wpływu polimorfizmów G-6A genu AGT, D/I genu ACE oraz A1166C genu AT1R na parametry ciśnieniowe i usztywnienia ścian tętnic. Interakcje pomiędzy polimorfizmami G-6A a D/I, G-6A a A1166C oraz pomiędzy trzema polimorfizmami ocenianymi łącznie, nie wykazały istotnie statystycznej znamienności dla parametrów ciśnieniowych oraz usztywnienia tętnic. Jednakże interakcje pomiędzy polimorfizmami D/I genu ACE a A1166C genu AT1R, w odniesieniu do parametrów ciśnień skurczowych: CTK sk_a ($p=0.03$), CTK sk ($p=0.02$) i CTK sk_24 ($p=0.03$) oraz ciśnień tętna: CTK tętna_a ($p=0.007$), CTK tętna ($p=0.008$) i CTK tętna_24 ($p=0.02$), lecz nie dla wartości ciśnień rozkurczowych ($p \geq 0.16$) i wskaźników przebudowy ścian naczyń ($p \geq 0.15$), osiągnęły wartości istotne statystycznie. W analizowanej populacji, u nosicieli allelu C, CTK sk_a było o 7.5 mmHg (95 % CI, od 5.2 mmHg do 9.8 mmHg; $p=0.0005$), CTK tętna_a o 8.4 mmHg (95 % CI, od 6.1 mmHg do 10.7 mmHg; $p=0.0007$), CTK tętna o 7.7 mmHg (95 % CI, od 5.1 mmHg do 10.3 mmHg; $p=0.003$) a CTK tętna_24 o 3.0 mmHg (95 % CI, od 1.3 mmHg do 4.7 mmHg; $p=0.09$) wyższe u homozygot II genu ACE w porównaniu z homozygotami DD. U nosicieli allelu C, w odniesieniu do parametrów usztywnienia ścian tętnic, AG było o 3.7 mmHg (95 % CI od 2.4 mmHg do 5.0 mmHg; $p=0.004$), A1x_a o 5.7 % (95 % CI od 3.8 % do 7.7 %; $p=0.03$), natomiast A1x_o o 7.1 % (95 % CI od 2.9 % do 11.3 %; $p=0.07$) wyższe u homozygot II genu ACE w porównaniu z homozygotami DD.

Wnioski

Podsumowując, częstość występowania alleli i genotypów polimorfizmów G-6A genu AGT, D/I genu ACE oraz A1166C genu AT1R w populacji rodzin oraz u osób z prawidłowym ciśnieniem i z nadciśnieniem tętniczym jest zbliżona do obserwowanych w innych populacjach europejskich. W badanej grupie polimorfizm D/I genu ACE, w odróżnieniu od polimorfizmów G-6A genu AGT i A1166C genu AT1R, wykazuje istotny związek z wybranymi parametrami ciśnieniowymi oraz przebudowy ścian tętnic, z niekorzystnym wpływem allelu I. W odniesieniu do parametrów ciśnieniowych oraz usztywnienia ścian tętnic, wykazano istnienie istotnych statystycznie interakcji pomiędzy polimorfizmem D/I genu ACE a dobowym wydalaniem sodu z moczem, wskazujących na ochronną rolę allelu D w grupie osób z wysokim dobowym spożyciem sodu. W próbie populacji regionu krakowskiego także interakcje pomiędzy polimorfizmami D/I genu ACE i A1166C genu AT1R osiągnęły znamienność statystyczną dla ciśnienia skurczowego i ciśnienia tętna, wskazując na łączny, niekorzystny wpływ alleli I i C.

Summary

Introduction

Essential hypertension is a complex, multifactorial clinical disorder with a diverse etiopathogenesis, influenced by environmental, genetic, hormonal and inflammatory factors. Apart from ageing, hypertension is the most recognized factor in the process of remodeling of large arteries. At present, it is considered that primary hypertension has a multigenetic origin and is a result of cumulative interaction of multiple genes and the environment and that only in rare cases it results from mutation within individual genes.

The aim of this study was to establish the frequency of alleles and genotypes of the G-6A AGT, D/I ACE, and A1166C AT1R gene polymorphisms in the population of the Cracow region families and in subjects with normal blood pressure values and with hypertension. Moreover, an attempt, based on association and family-based analysis, has been made to detect association of the analyzed polymorphisms with blood pressure and with parameters of large artery wall stiffness, as well as to assess the interaction between genetic and environmental factors and gender and their joint influence on the parameters of blood pressure and arterial remodeling.

Methods

The present study was conducted as a part of the European research project, on the impact of selected genes on large artery elastic properties – *A Polish-Flemish population study on the role of candidate genes in the determination on the wall characteristics of the central arteries*, in which three European countries participated.

Each of the subjects was asked to complete a standardized epidemiological questionnaire. Participant's blood pressure was measured five times at home with a mercury sphygmomanometer, moreover the subjects underwent 24-hour ambulatory blood pressure monitoring (*SpaceLabs 90207 device*) and measurements of large artery elastic properties with the use of pulse wave analysis method (*SphygmoCor software, version 6.31*). The research participants additionally underwent assessment of anthropometric parameters, biochemical analyses of blood and urine samples and the evaluation of polymorphisms of selected genes of the RAA system.

Results

The distribution of genotype frequency of the G-6A AGT ($p=.52$), D/I ACE ($p=0.57$), and A1166C AT1R ($p=0.89$) gene polymorphisms complied with Hardy-Weinberg equilibrium and was comparable with the distribution observed in other

European populations. The frequency of alleles ($0.25 \leq p \leq 0.92$) and genotypes ($0.36 \leq p \leq 0.89$) of the analyzed polymorphisms exhibited a nonsignificant difference between hypertensives and normotensives.

The analysis of the association of phenotypic variables with genetic factors, performed on the general population and separately on each of the generation-based groups, did not reveal any statistically significant differences between subjects within the genotype groups with regard to G-6A AGT gene polymorphism and between AA homozygotes and C allele carriers of the A1166C AT1R gene polymorphism with respect to the values of diastolic ($0.06 \leq p \leq 0.91$), systolic ($0.14 \leq p \leq 0.99$) and pulse pressure ($0.07 \leq p \leq 0.99$), obtained by conventional method, during 24-hour monitoring and by means of pulse wave analysis method as well as the parameters of large artery wall stiffness ($0.08 \leq p \leq 0.98$).

However, the analyzes performed between the genotypes of D/I polymorphism of the ACE gene, revealed significantly lower values of CTK sk_a in general population (114.3 ± 0.8 vs 117.7 ± 1.2 mmHg; $p=0.02$), in parents (124.7 ± 1.6 vs 130.3 ± 2.1 mmHg; $p=0.02$) and children (104.8 ± 0.9 vs 107.6 ± 0.9 mmHg; $p=0.03$) and of CTK sk_24 in the subgroup of parents (120.0 ± 1.5 vs 124.0 ± 1.9 mmHg; $p=0.05$), for the subjects with DD genotype, in comparison with subjects with II genotype. Similarly, significantly lower values of CTK tetna_a were revealed in general population (31.2 ± 0.9 vs 35.7 ± 1.4 mmHg; $p=0.009$), in parents (36.0 ± 1.3 vs 41.4 ± 2.3 mmHg; $p=0.05$) and children (27.0 ± 1.2 vs 30.8 ± 1.2 mmHg; $p=0.02$) analyzed separately and of CTK tetna_24 in the subgroup of parents (44.7 ± 1.2 vs 48.4 ± 1.3 mmHg; $p=0.03$), for the subjects with DD, compared with II genotype. In further analyzes, performed on the general population and on the subgroups, no statistically significant differences between subjects within the various genotype groups with regard to D/I ACE gene polymorphism and the values of diastolic pressures ($p \geq 0.18$) as well as the parameters of large artery wall stiffness ($p \geq 0.10$) were revealed.

The joint influence of the environmental factors (such as the amount of salt intake and the genetic polymorphisms in genes of the RAA system) on the arterial blood pressure and the processes of remodeling of cardiovascular system, arouses much interest and is the subject of numerous research studies. For G-6A AGT and A1166C AT1R gene polymorphisms, the above interaction did not reach statistical significance with regard to the parameters of blood pressure ($p \geq 0.10$) and arterial wall stiffness ($p \geq 0.13$). However, the analyzes performed on the general population,

concerning the interaction between D/I polymorphism of the ACE gene and daily sodium excretion in the urine, revealed statistically significant associations with regard to CTK sk_a ($p=0.03$), CTK tetna_a ($p=0.01$), CTK tetna ($p=0.02$) and AG ($p=0.05$). During the association analysis, performed between the parameters of blood pressure and arterial wall stiffness and D/I polymorphism in terciles of daily sodium excretion, we observed statistically significantly higher values of CTK sk_a (125.6 ± 2.6 vs 118.3 ± 1.4 mmHg, $p=0.02$), CTK tetna_a (42.2 ± 2.0 vs 33.5 ± 1.0 mmHg, $p=0.0001$), CTK tetna_24 (50.1 ± 1.1 vs 47.8 ± 0.8 mmHg, $p=0.005$) and CTK tetna (53.1 ± 1.8 vs 47.7 ± 1.4 mmHg, $p=0.0004$) for the group of II homozygotes as compared to D allele carriers in the third tercile of sodium excretion, which was not observed in first and second tercile ($p\geq 0.14$). Similarly, while analyzing parameters of arterial wall stiffness, in the third tercile of sodium excretion, one observed statistically significantly higher values of AG (9.4 ± 1.2 vs 6.0 ± 0.6 mmHg, $p=0.02$) and AIx_a (20.1 ± 2.4 vs 16.1 ± 1.0 %, $p=0.07$) for the group of II homozygotes in comparison to D allele carriers. The above associations were not observed in first and second tercile of daily sodium excretion ($p\geq 0.28$).

The analyzes, concerning the interaction of G-6A AGT, D/I ACE and A1166C AT1R gene polymorphisms on the parameters of blood pressure and arterial wall stiffness, were also performed in the examined population. The interactions between either G-6A and D/I or G-6A and A1166C polymorphisms and between three polymorphisms assessed jointly, did not reveal any statistical significance for the blood pressure and arterial wall stiffness parameters. However, the interactions between D/I ACE and A1166C AT1R gene polymorphisms with regard to systolic pressures: CTK sk_a ($p=0.03$), CTK sk ($p=0.02$) and CTK sk_24 ($p=0.03$) and pulse pressures: CTK tetna_a ($p=0.007$), CTK tetna ($p=0.008$) and CTK tetna_24 ($p=0.02$), but not with regard to diastolic pressures ($p\geq 0.16$) and arterial remodeling parameters ($p\geq 0.15$), reached statistically significant values. In the analyzed population, for C allele carriers, CTK sk_a was 7.5 mmHg (95 % CI, 5.2 mmHg - 9.8 mmHg; $p=0.0005$), CTK tetna_a 8.4 mmHg (95 % CI, 6.1 mmHg - 10.7 mmHg; $p=0.0007$), CTK tetna 7.7 mmHg (95 % CI, 5.1 mmHg - 10.3 mmHg; $p=0.003$) and CTK tetna_24 3.0 mmHg (95 % CI, 1.3 mmHg - 4.7 mmHg; $p=0.09$) higher for ACE II homozygotes in comparison to DD homozygotes. For C allele carriers, with respect to arterial wall stiffness parameters, AG was 3.7 mmHg (95 % CI 2.4 mmHg - 5.0 mmHg; $p=0.004$), AIx_a 5.7 % (95 % CI 3.8 % - 7.7 %; $p=0.03$) and AIx_o 7.1 % (95 % CI 2.9 % - 11.3 %; $p=0.07$) higher for ACE II homozygotes, as compared to DD homozygotes.

Conclusions

Summing up, the frequency of alleles and genotypes of G-6A AGT, D/I ACE and A1166C AT1R gene polymorphisms, in the population of families as well as in the subjects with normal blood pressure and with hypertension, is similar to the observed in other European populations. In the examined group, D/I polymorphism of the ACE gene as opposed to G-6A AGT and A1166C AT1R gene polymorphisms, has revealed significant association with selected parameters of blood pressure and arterial remodeling, with the negative effect of the I allele. In relation to the parameters of blood pressure and arterial wall stiffness, the interactions between D/I polymorphism of the ACE gene and daily sodium excretion in the urine were revealed, which indicated that D allele has a protective role in the group of subjects with high daily sodium intake. In the sample of the Cracow region population, also the interactions between D/I polymorphism of the ACE gene and A1166C polymorphism of the AT1R gene reached statistical significance for systolic and pulse pressures, revealing joint negative effect of I and C alleles.

Spis tabel

Tabela 1. Charakterystyka kliniczna i czynniki stylu życia w badanej populacji.	32
Tabela 2. Wyniki badań specjalistycznych w badanej populacji.	33
Tabela 3. Charakterystyka kliniczna i czynniki stylu życia w badanej populacji.	34
Tabela 4. Wyniki badań specjalistycznych w badanej populacji.	35
Tabela 5. Zależności pomiędzy parametrami ciśnieniowymi w badanej populacji.	38
Tabela 6. Rozkład alleli i genotypów polimorfizmów G-6A genu AGT, D/I genu ACE oraz A1166C genu AT1R w badanej populacji oraz w grupach z prawidłowym ciśnieniem krwi i z nadciśnieniem.	43
Tabela 7. Analiza asocjacji ciśnień skurczowych w odniesieniu do polimorfizmu D/I genu ACE w rodzinach nuklearnych, wśród rodziców oraz dzieci.	45
Tabela 8. Analiza asocjacji ciśnień tętna w odniesieniu do polimorfizmu D/I genu ACE w rodzinach nuklearnych, wśród rodziców oraz dzieci.	47
Tabela 9. Analiza QTDT w odniesieniu do polimorfizmu D/I genu ACE.	49
Tabela 10. Parametry ciśnień skurczowych w odniesieniu do polimorfizmów D/I genu ACE oraz A1166C genu ATR1 w rodzinach nuklearnych.	56
Tabela 11. Parametry ciśnień tętna w odniesieniu do polimorfizmów D/I genu ACE oraz A1166C genu ATR1 w rodzinach nuklearnych.	57
Tabela 12. Parametry usztywnienia ścian naczyń w odniesieniu do polimorfizmów D/I genu ACE oraz A1166C genu ATR1 w rodzinach nuklearnych.	58

Spis rycin

- Rycina 1.** Uzyskane podczas pomiarów urządzeniem SphygmoCor kształty fal tętna na tętnicy promieniowej i w aorcie wstępującej, wraz z parametrami ciśnieniowymi i usztywnienia ścian tętnic.24
- Rycina 2.** Wartości obwodowych i centralnych parametrów ciśnieniowych, w grupach wiekowych oraz u kobiet i u mężczyzn.36
- Rycina 3.** Wartości obwodowych i centralnych parametrów usztywnienia ścian naczyń, w grupach wiekowych oraz u kobiet i u mężczyzn.37
- Rycina 4.** Wpływ genotypów DD, ID oraz II genu ACE na wartości centralnego i 24-godzinnego ciśnienia skurczowego w rodzinach nuklearnych, wśród rodziców oraz dzieci.46
- Rycina 5.** Wpływ genotypów DD, ID oraz II genu ACE na wartości centralnego i 24-godzinnego ciśnienia tętna w rodzinach nuklearnych, wśród rodziców oraz dzieci.48
- Rycina 6.** Analiza asocjacji centralnego i obwodowych ciśnień skurczowych z polimorfizmem D/I genu ACE w rodzinach nuklearnych, w tercylach 24-godzinnego wydalania sodu z moczem.52
- Rycina 7.** Analiza asocjacji centralnego i obwodowych ciśnień tętna z polimorfizmem D/I genu ACE w rodzinach nuklearnych, w tercylach 24-godzinnego wydalania sodu z moczem.53
- Rycina 8.** Analiza asocjacji wskaźników przebudowy ścian naczyń z polimorfizmem D/I genu ACE w rodzinach nuklearnych, w tercylach 24-godzinnego wydalania sodu z moczem.54

Piśmiennictwo

1. Staessen JA, Wang JG, Bianchi G, Birkenhager WH. Essential hypertension. *Lancet*. 361, 1629-1641. 2003.
2. Oparil S, Zaman MA, Calhoun DA. Pathogenesis of hypertension. *Ann Intern Med*. 139, 761-776. 2003.
3. Carretero OA, Oparil S. Essential hypertension. Part I: definition and etiology. *Circulation*. 101, 329-335. 2000.
4. Nichols WW, O'Rourke MF. McDonald's Blood Flow in Arteries Theoretica, Experimental and Clinical Principles. 4th ed. London: Arnold E. 54-113, 201-222, 347-401. 1998.
5. Safar ME, London GM. Therapeutic studies and arterial stiffness in hypertension: recommendations of the European Society of Hypertension. *J Hypertens*. 18, 1527-1535. 2000.
6. Lifton RP, Gharavi AG, Geller DS. Molecular mechanisms of human hypertension. *Cell*. 104, 545-556. 2001.
7. Ciechanowicz A. Genetyka molekularna nadciśnienia tętniczego. *Terapia*. 9, 18-24. 2002.
8. Barlassina C, Lanzani C, Manunta P, Bianchi G. Genetics of essential hypertension: from families to genes. *J Am Soc Nephrol*. 13, S155-S164. 2002.
9. Lee WK, Padmanabhan S, Dominiczak AF. Genetics in hypertension: from experimental models to clinical applications. *J Hum Hypertens*. 14, 631-647. 2000.
10. Appel LJ, Moore TJ, Obarzanek E, Vollmer WM, Svetkey LP, Sacks FM, Bray GA, Vogt TM, Cutlet JA, Windhauser MM, Lin PH, Karanja N. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure: DASH Collaborative Research Group. *N Eng J Med*. 336, 1117-1124. 1997.
11. Petrella RJ. How effective is exercise training for the treatment of hypertension? *Clin J Sport Med*. 8, 224-231. 1998.

12. Keller G, Zimmer G, Mall G, Ritz E, Amann K. Nephron number in patients with primary hypertension. *N Eng J Med.* 348, 101-108. 2003.
13. Barlassina C, Schork NJ, Manunta P, Citterio G, Sciarrone M, Lanella G, Bianchi G, Cusi D. Synergistic effect of alpha-adducin and ACE genes causes blood pressure changes with body sodium and volume expansion. *Kidney Int.* 57, 1083-1090. 2000.
14. Orlov SN, Adragna NC, Adarichev VA, Hamet P. Genetic and biochemical determinants of abnormal monovalent ion transport in primary hypertension. *Am J Physiol.* 276, C511-C536. 1999.
15. Schoner W. Endogenous cardiac glycosides, a new class of steroid hormone. *Eur J Biochem.* 269, 2440-2448. 2002.
16. Graudal NA, Galloe AM, Garred P. Effects of sodium restriction on blood pressure, renin, aldosterone, catecholamines, cholesterols, and triglyceride: a meta-analysis. *JAMA.* 279, 1383-1391. 1998.
17. Sacks FM, Svetkey LP, Vollmer WM, Appel LJ, Bray GA, Harsha D, Obarzanek E, Conlin PR, Miller ER 3rd, Simons-Morton DG, Karanja N, Lin PH. Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. DASH-Sodium Collaborative Research Group. *N Eng J Med.* 344, 3-10. 2001.
18. Safar ME, Benetos A. Factors influencing arterial stiffness in systolic hypertension in the elderly: role of sodium and the renin-angiotensin system. *Am J Hypertens.* 16, 249-258. 2003.
19. Draaijer P, Kool MJ, Maessen JM, Van Bortel LM, de Leeuw PW, van Hooff JP, Leunissen KM. Vascular distensibility and compliance in salt-sensitive and salt-resistant borderline hypertension. *J Hypertens.* 11, 1199-1207. 1993.
20. du Cailar G, Mimran A, Fesler P, Ribstein J, Blacher J, Safar ME. Dietary sodium and pulse pressure in normotensive and essential hypertensive subjects. *J Hypertens.* 22, 697-703. 2004.
21. Konturek S. *Fizjologia człowieka.* Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego. Kraków. Drugie wydanie. 150-154. 2000.

22. Van Bortel LM, Struijker-Boudier HA, Safar ME. Pulse pressure, arterial stiffness, and drug treatment of hypertension. *Hypertension*. 38, 914-921. 2001.
23. Benetos A, Laurent S, Hoeks AP, Boutouyrie PH, Safar ME. Arterial alterations with aging and high blood pressure. A noninvasive study of carotid and femoral arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 13, 90-97. 1993.
24. O'Rourke MF. Mechanical principles in arterial disease. Second workshop on structure and function of large arteries. *Hypertension*. 26, 1-9. 1995.
25. Reneman RS, Hoeks AP. Noninvasive vascular ultrasound: an asset in vascular medicine. *Cardiovasc Res*. 45, 27-35. 2000.
26. Safar ME, Blacher J, Pannier B, Guerin AP, Marchais SJ, Guyonvarc'h PM, London GM. Central pulse pressure and mortality in end-stage renal disease. *Hypertension*. 39, 735-738. 2002.
27. O'Rourke MF, Staessen JA, Vlachopoulos C, Duprez D, Plante GE. Clinical applications of arterial stiffness; definitions and reference values. *Am J Hypertens*. 15, 426-444. 2002.
28. Van der Heijden-Spek JJ. Large arteries properties and cardiovascular risk: a population study. *Unigraphis, Maastricht* , 1-47. 2000.
29. Kelly R, Hayward C, Avolio AP, O'Rourke MF. Noninvasive determination of age-related changes in the human arterial pulse. *Circulation*. 80, 1652-1659. 1989.
30. Safar ME. Hypothesis of isolated systolic hypertension in the elderly. *J Hum Hypertens*. 13, 813-815. 1999.
31. O'Rourke MF, Pauca A, Jiang XJ. Pulse wave analysis. *Br J Clin Pharmacol*. 51, 507-522. 2001.
32. Baumbach GL, Heistad DD. Adaptive changes in cerebral blood vessels during chronic hypertension. *J Hypertens* 9, 987-991. 1991.
33. Hart MN, Heistad DD, Brody MJ. Effect of chronic hypertension and sympathetic denervation on wall/lumen ratio of cerebral vessels. *Hypertension*. 2, 419-423. 1980.

34. Chrysant SG. Vascular remodeling: the role of angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Am Heart J.* 135, 21-30. 1998.
35. Gibbons GH, Dzau VJ. The emerging concept of vascular remodeling. *N Eng J Med.* 330, 1431-1438. 1994.
36. Dembińska-Kieć A. Mechanizmy przebudowy ścian naczyń i serca w chorobach układu krążenia. Nadciśnienie tętnicze. *Medycyna Praktyczna.* 35-44. 2000.
37. Karpanou EA, Vyssoulis GP, Papakyriakou SA. Effects of menopause on aortic root function in hypertensive women. *J Am Coll Cardiol.* 28, 1562-1566. 1996.
38. London GM, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, Stimpel M. Influence of sex on arterial hemodynamics and blood pressure: role of body height. *Hypertension.* 26, 514-519. 1995.
39. Mark AL, Correia M, Morgan DA, Shaffer RA, Haynes WG. State-of-the-art-lecture: Obesity-induced hypertension: new concepts from the emerging biology of obesity. *Hypertension.* 33, 537-541. 1999.
40. Dustan HP. Does keloid pathogenesis hold the key to understanding black/white differences in hypertension severity? *Hypertension.* 26, 858-862. 1995.
41. Mahmud A, Feely J. Effect of smoking on arterial stiffness and pulse pressure amplification. *Hypertension.* 41, 183-187. 2003.
42. Sa Cunha R, Pannier B, Benetos A, Siche JP, London GM, Mallion JM, Safar ME. Association between high heart rate and high arterial rigidity in normotensive and hypertensive subjects. *J Hypertens.* 15, 1432-1430. 1997.
43. Lehmann ED, Hopkins KD, Gosling RG. Aortic compliance measurements using Doppler ultrasound: in vivo bio-chemical correlates. *Ultrasound Med Biol.* 19, 683-710. 1993.
44. Bortolotto LA, Safar ME, Billaud E, Lacroix C, Asmar R, London GM, Blacher J. Plasma homocysteine, aortic stiffness, and renal function in hypertensive patients. *Hypertension.* 34, 837-842. 1999.

45. Tanakouchi S, Okada S, Ota Z. Factors related to aortic pulse-wave velocity in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Int Med Res.* 23, 423-430. 1995.
46. Safar ME, London GM, Plante GE. Arterial stiffness and kidney function. *Hypertension.* 43, 163-68. 2004
47. Lakatta EG. Cardiovascular regulatory mechanisms in advanced age. *Physiol Rev.* 73, 413-467. 1992.
48. Gryglewska B, Gąsowski J, Grodzicki T. Ciśnienie tętna - nowy czynnik ryzyka powikłań sercowo-naczyniowych. *Nadciśnienie Tętnicze.* 9, 57-62. 2000.
49. Pauca AL, Wallenhaupt SL, Kon ND, Tucker WY. Does radial artery pressure accurately reflect aortic pressure? *Chest.* 102, 1193-1198. 1992.
50. Franklin SS, Khan SA, Wong ND, Larson MG, Levy D. Is pulse pressure useful in predicting risk for coronary heart disease? The Framingham heart study. *Circulation.* 100, 354-360. 1999.
51. Staessen JA, Gasowski J, Wang JG, Thijs L, Den Hond E, Boissel JP, Coope J, Ekblom T, Gueyffier F, Liu L, Kerlikowske K, Pocock S, Fagard, R. Risks of untreated and treated isolated systolic hypertension in the elderly: meta-analysis of outcome trials. *Lancet.* 355, 865-872. 2000.
52. Blacher J, Staessen JA, Girerd X, Gąsowski J, Thijs L, Liu L, Wang JG, Fagard RH, Safar ME. Pulse pressure not mean pressure determines cardiovascular risk in older hypertensive patients. *Arch Intern Med.* 160, 1085-1089. 2000.
53. Verdecchia P, Schillaci G, Borgioni C, Ciucci A, Pede S, Porcellati C. Ambulatory pulse pressure: a potent predictor of total cardiovascular risk in hypertension. *Hypertension.* 32, 983-988. 1998.
54. Staessen JA, Thijs L, O'Brien ET, Bulpitt CJ, de Leeuw PW, Fagard RH, Nachev C, Palatini P, Parati G, Tuomilehto J, Webster J, Safar ME. Ambulatory pulse pressure as predictor of outcome in older patients with systolic hypertension. *Am J Hypertens.* 15 (part 1), 835-843. 2002.

55. de Simone G, Roman MJ, Alderman MH, Galderisi M, de Divitiis O, Devereux RB. Is high pulse pressure a marker of preclinical cardiovascular disease? *Hypertension*. 45, 575-579. 2005.
56. Wojciechowska W, Cwynar M, Gryglewska B, Kawecka-Jaszcz K. Analiza fali tętna: od podstaw do zastosowań. *Przegląd Lekarski*. 59, 9-14. 2002.
57. Kelly RP, Ting CT, Yang TM, Liu CP, Maughan WL, Chang MS, Kass DA. Effective arterial elastance as index of arterial vascular load in humans. *Circulation*. 86, 513-521. 1992.
58. Kelly R, Hayward C, Ganis J, Daley J, Avolio A, O'Rourke M. Noninvasive registration of the arterial pressure pulse waveform using high-fidelity applanation tonometry. *J Vasc Med Biol*. 3, 142-149. 1993.
59. Saba PS, Cavallini C, Scorzoni D, Longhini C, Pini R, Ganau A. Arterial tonometry: principles and clinical applications in hypertension. *High Blood Press*. 5, 241-250. 1996.
60. Karamanoglu M, O'Rourke MF, Avolio AP, Kelly RP. An analysis of the relationship between central aortic and peripheral upper limb pressure waves in man. *Eur Heart J*. 14, 160-167. 1993.
61. Chen CH, Nevo E, Fetisov B, Pak PH, Yin FC, Maughan WL, Kass DA. Estimation of central aortic pressure waveform by mathematical transformation of radial tonometry pressure. Validation of generalized transfer function. *Circulation*. 95, 1827-1836. 1997.
62. Boutouyrie P, Bussy C, Lacolley P, Girerd X, Laloux B, Laurent S. Association between local pulse pressure, mean blood pressure and large-artery remodeling. *Circulation*. 100, 1387-1393. 1999.
63. Kohara K, Jiang Y, Igase M, Hiwada K. Effect of reflection of arterial pressure on carotid circulation in essential hypertension. *Am J Hypertens*. 12, 1015-1020. 1999.
64. Saba PS, Roman MJ, Pini R, Spitzer M, Ganau A, Devereux RB. Relation of arterial pressure waveform to left ventricular and carotid anatomy in normotensive subjects. *J Am Coll Cardiol*. 22, 1873-1880. 1993.

65. Wilkinson IB, Prasad K, Hall IR, Thomas A, MacCallum H, Webb DJ, Frenneaux MP, Cockcroft JR. Increased central pulse pressure and augmentation index in subjects with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol.* 39, 1005-1011. 2002.
66. Waddell TK, Dart AM, Medley TL, Cameron JD, Kingwell BA. Carotid pressure is a better predictor of coronary artery disease severity than brachial pressure. *Hypertension.* 38, 927-931. 2001.
67. Kelly RP, Millasseau SC, Ritter JM, Chowienczyk PJ. Vasoactive drugs influence aortic augmentation index independently of pulse-wave velocity in healthy men. *Hypertension.* 37, 1429-1433. 2001.
68. Yasmin, Brown MJ. Similarities and differences between augmentation index and pulse wave velocity in the assessment of arterial stiffness. *Q J Med.* 92, 595-600. 1999.
69. Wilkinson IB, MacCallum H, Rooijmans DF, Murray GD, Cockcroft JR, McKnight JA, Webb DJ. Increased augmentation index and systolic stress in type 1 diabetes mellitus. *Q J Med.* 93, 441-448. 2000.
70. Nurnberger J, Keflioglu-Scheiber A, Opazo Saez AM, Wenzel RR, Philipp T, Schafers RF. Augmentation index is associated with cardiovascular risk. *J Hypertens.* 20, 2407-2414. 2002.
71. Chirinos JA, Zambrano JP, Chakko S, Veerani A, Schob A, Willens HJ, Perez G, Mendez AJ. Aortic pressure augmentation predicts adverse cardiovascular events in patients with established coronary artery disease. *Hypertension.* 45, 980-985. 2005.
72. London GM, Blacher J, Pannier B, Guerin AP, Marchais SJ, Safar ME. Arterial wave reflections and survival in end-stage renal failure. *Hypertension.* 38, 434-438. 2001.
73. Weir MR, Dzau VJ. The renin-angiotensin-aldosterone system: a specific target for hypertension management. *Am J Hypertens.* 12, 205S-213S. 1999.
74. Struthers AD. Aldosterone: cardiovascular assault. *Am Heart J.* 144, 2-7. 2002.

75. Danser AH. Local renin-angiotensin systems. *Mol Cell Biochem.* 157, 211-216. 1996.
76. Cesari M, Rossi GP, Pessina AC. Biological properties of the angiotensin peptides other than angiotensin II: implications for hypertension and cardiovascular disease. *J Hypertens.* 20, 793-799. 2002.
77. Rosenberg ME, Smith LJ, Correa-Rotter R, Hostetter TH. The paradox of the renin-angiotensin system in chronic renal disease. *Kidney Int.* 45, 403-410. 1994.
78. Opie LH. Inhibitory konwertazy angiotensyny. *Postęp trwa. Via Medica.* Wydanie III. 1-26. 1999.
79. Nicholls MG, Robertson JIS. The renin-angiotensin system in the year 2000. *J Hum Hypertens.* 14, 649-666. 2000.
80. Brasier AR, Li J. Mechanisms for inducible control of angiotensinogen gene transcription. *Hypertension.* 27, 465-475. 1996.
81. Szczepańska-Sadowska E. Układ renina-angiotensyna. *Nadciśnienie tętnicze. Medycyna Praktyczna.* 157-165. 2000.
82. Chrostowska M, Narkiewicz K. Leki hamujące układ renina-angiotensyna-aldosteron w terapii nadciśnienia tętniczego. *Leki hamujące układ renina-angiotensyna-aldosteron.* Urban and Partner. 105-124. 2000.
83. Matsubara M. Genetic determination of human essential hypertension. *Tohoku J Exp Med.* 192, 19-33. 2000.
84. Szczepańska-Sadowska E. Fizjologia i patofizjologia układu renina-angiotensyna-aldosteron. *Leki hamujące układ renina-angiotensyna-aldosteron.* Urban and Partner. 1-25. 2000.
85. Jeunemaitre X, Soubrier F, Kotelevtsev YV, Lifton RP, Williams CS, Charru A, Hunt SC, Hopkins PN, Williams RR, Lalouel JM, Corvol P. Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen. *Cell.* 71, 169-180. 1992.
86. Inoue I, Nakajima T, Williams CS, Quackenbush J, Puryear R, Powers M, Cheng T, Ludwig EH, Sharma AM, Hata A, Jeunemaitre X, Lalouel JM. A nucleotide

- substitution in the promoter of human angiotensinogen is associated with essential hypertension and affects basal transcription in vitro. *J Clin Invest.* 99, 1786-1797. 1997.
87. Sato N, Katsuya T, Rakugi S, Takami S, Miki T, Higaki J, Ogihara T. Association of variants in critical core promoter element of angiotensinogen gene with increased risk of essential hypertension in Japanese. *Hypertension.* 30, 321-325. 1997.
 88. Ishigami T, Umemura S, Tamura K, Hibi K, Nyui N, Kihara M, Yabana M, Watanabe M, Sumida Y, Nagahara T, Ochiai H, Ishii M. Essential hypertension and 5' upstream core promoter region of human angiotensinogen gene. *Hypertension.* 30, 1325-1330. 1997.
 89. Brand-Herrmann SM, Kopke K, Reichenberger F, Schmidt-Petersen K, Reineke T, Paul M, Zidek W, Brand E. Angiotensinogen promoter haplotypes are associated with blood pressure in untreated hypertensives. *J Hypertens.* 22, 1289-1297. 2004.
 90. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest.* 86, 1343-1346. 1990.
 91. Poirier O, Georges JL, Richard S, Arveiler D, Ruidavets JB, Luc G, Evans A, Cambien F, Tiret L. New polymorphisms of the angiotensin II type 1 receptor gene and their associations with myocardial infarction and blood pressure: the ECTIM study. *J Hypertens.* 16, 1443-1447. 1998.
 92. Bonnardeaux A, Davies E, Jeunemaitre X, Fery I, Charru A, Clauser E, Tiret L, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism in human essential hypertension. *Hypertension.* 24, 63-69. 1994.
 93. Wang JG, Staessen JA. Genetic polymorphisms in the renin-angiotensin system: relevance for susceptibility to cardiovascular disease. *Eur J Pharmacol.* 410, 289-302. 2000.

94. Cwynar M, Staessen JA, Ticha M, Citterio G, Kuznetsova T, Wojciechowska W, Stolarz K, Filipovsky J, Kawecka-Jaszcz K, Grodzicki T, Struijker-Boudier HA, Thijs L, Van Bortel LM, Bianchi G. Epistatic interaction between α - and γ -adducin influences peripheral and central pulse pressures in white Europeans. *J Hypertens.* 23, 961-969. 2005.
95. Kawecka-Jaszcz K. European Project on Genes in Hypertension (EPOGH)-informacje o programie. *Nadciśnienie Tętnicze.* 4, 221-223. 2000.
96. Kuznetsova T, Staessen JA, Kawecka-Jaszcz K, Babeanu S, Casiglia E, Filipovsky J, Nachev C, Nikitin Y, Paleska J, O'Brien E. Quality control of the blood pressure phenotype in the European Project on Genes in Hypertension. *Blood Press Monit.* 7, 215-224. 2002.
97. Kuznetsova T, Staessen JA, Stolarz K, Ryabikov A, Tikhonoff V, Olszanecka A, Bianchi G, Brand E, Casiglia E, Dominiczak A, Fagard R, Malyutina S, Nikitin Y, Kawecka-Jaszcz K. Relationship between left ventricular mass and the ACE D/I polymorphism varies according to sodium intake. *J Hypertens.* 22, 287-295. 2004.
98. Kuznetsova T, Staessen JA, Thijs L, Kunath C, Olszanecka A, Ryabikov A, Tikhonoff V, Stolarz K, Bianchi G, Casiglia E, Fagard R, Brand-Herrmann SM, Kawecka-Jaszcz K, Malyutina S, Nikitin Y, Brand E. Left ventricular mass in relation to genes variation in angiotensin II receptors, renin system genes, and sodium excretion. *Circulation.* 110, 2644-2650. 2004.
99. Wojciechowska W, Staessen JA, Stolarz K, Nawrot T, Filipovsky J, Ticha M, Bianchi G, Brand E, Cwynar M, Grodzicki T, Kuznetsova T, Struijker-Boudier HA, Svobodova V, Thijs L, Van Bortel LM, Kawecka-Jaszcz K. Association of peripheral and central arterial wave reflections with the CYP11B2 -344C allele and sodium excretion. *J Hypertens.* 22, 1-9. 2004.
100. Zasady postępowania w nadciśnieniu tętniczym. Stanowisko Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego. *Nadciśnienie Tętnicze.* 7 (supp. A), 1-21. 2003.
101. SphygmoCor. Operators Manual.PWV Medical Pty.Ltd. 1-55. 2000.

102. Luft FC, Fineberg NS, Sloan RS. Estimating dietary sodium intake in individuals receiving a randomly fluctuating intake. *Hypertension*. 4, 805-808. 1982.
103. Paillard F, Chensel D, Brand E, Benetos A, Thomas F, Czekalski S, Ardaillou R, Soubrier F. Genotype-phenotype relationships for the renin-angiotensin-aldosterone system in a normal population. *Hypertension*. 34, 423-429. 1999.
104. Rigat B, Hubert C, Corvol P, Soubrier F. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene DCPI (dipeptidyl carboxypeptidase 1). *Nucl Acids Res*. 20, 1433. 1992.
105. Lindpaintner K, Pfeffer MA, Kreutz R, Stampfer MJ, Grodstein F, LaMotte F, Buring J, Hennekens CH. A prospective evaluation of an angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and the risk of ischaemic heart disease. *N Eng J Med*. 332, 706-711. 1995.
106. Kuznetsova T. Context-dependency of renin-angiotensin-aldosterone system genes in relation to left ventricular structure. Leuven University Press. 1-168. 2004.
107. The SAS Institute. The GENMOD procedure. SAS Online Doc Version 7.1: SAS/STAT. Cary, North Carolina, USA: The SAS Institute Inc. Ref Type: Generic. 1311-1411. 2000.
108. Abecasis GR, Cordon LR, Cookson WO. A general test of association for quantitative traits in nuclear families. *Am J Hum Genet*. 66, 279-292. 2000.
109. Province MA, Boerwinkle E, Chakravarti A, Cooper R, Fornage M, Leppert M, Risch N, Ranade K. Lack of association of the angiotensinogen-6 polymorphism with blood pressure levels in the comprehensive NHLBI Family Blood Pressure Program. *J Hypertens*. 18, 867-876. 2000.
110. Sethi AA, Nordestgaard BG, Gronholdt MLM, Steffensen R, Jensen G, Tybjaerg-Hansen A. Angiotensinogen single nucleotide polymorphisms, elevated blood pressure, and risk of cardiovascular disease. *Hypertension*. 41, 1202-1211. 2003.

111. Kuznetsova T, Staessen JA, Reineke T, Olszanecka A, Ryabikov A, Tikhonoff V, Stolarz K, Bianchi G, Casiglia E, Fagard R, Herrmann SM, Kawecka-Jaszcz K, Nikitin Y, Brand E. Context-dependency of the relation between left ventricular mass and AGT gene variants. *J Hum Hypertens.* 19, 155-163. 2005.
112. Staessen JA, Wang JG, Ginocchio G, Petrov V, Saavedra AP, Soubrier F, Vlietinck R, Fagard R. The deletion/insertion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and cardiovascular-renal risk. *J Hypertens.* 15, 1579-1592. 1997.
113. Sayed-Tabatabaei FA, Houwing-Duistermaat JJ, van Duijn CM, Witteman JCM. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphisms and carotid artery wall thickness. *Stroke.* 34, 1634-1639. 2003.
114. Bellwon J, Gruchała M, Siebert J, Wasąg B, Ochman K, Targoński R, Dubaniewicz W, Chlebus K, Gałaska R, Rynkiewicz A. Współwystępowanie wariantów polimorficznych I/D genu ACE i A1166C genu receptora AT1 angiotensyny II a ciśnienie tętnicze u mężczyzn bez jawnych klinicznie schorzeń miażdżycopodobnych. *Nadciśnienie Tętnicze.* 4, 261-268. 2000.
115. Staessen JA, Wang JG, Brand E, Barlassina C, Birkenhager WH, Herrmann SM, Fagard R, Tizzoni L, Bianchi G. Effects of three candidate genes on prevalence and incidence of hypertension in a Caucasian population. *J Hypertens.* 19, 1349-1358. 2001.
116. Czarnecka D, Kawecka-Jaszcz K, Stolarz K, Olszanecka A, Kieć-Wilk B, Dembińska-Kieć A. Genetic factors in hypertension. Angiotensin-converting enzyme polymorphism. *Kardiologia Pol.* 61, 1-10. 2004.
117. Staessen JA, Ginocchio G, Wang JG, Saavedra AP, Soubrier F, Vlietinck R, Fagard R. Genetic variability in the renin-angiotensin system: prevalence of alleles and genotypes. *J Cardiovasc Risk.* 4, 401-422. 1997.
118. Lajemi M, Labat C, Gautier S, Lacolley P, Safar M, Asmar R, Cambien F, Benetos A. Angiotensin II type 1 receptor-153A/G and 1166A/C gene polymorphisms and increase in aortic stiffness with age in hypertensive subjects. *J Hypertens.* 19, 407-413. 2001.

119. Stolarz K, Staessen JA, Kawecka-Jaszcz K, Brand E, Bianchi G, Kuznetsova T, Tikhonoff V, Thijs L, Reineke T, Babeanu S, Casiglia E, Fagard R, Filipovsky J, Paleska J, Nikitin Y, Struijker-Boudier HA, Grodzicki T. Genetic variation in *CYP11B2* and *AT1R* influences heart rate variability conditional on sodium excretion. *Hypertension*. 44, 1-7. 2004.
120. Castellano M, Muiesan ML, Rizzoni D, Beschi M, Pisini G, Cinelli A, Salvetti M, Porteri E, Bettoni G, Kreutz R, Lindpaintner K, Agabiti-Rosei M. Angiotensin converting enzyme I/D polymorphism and arterial wall thickness in general population. The Vobarno study. *Circulation*. 91, 2721-2724. 1995.
121. Benetos A, Gautier S, Ricard S, Topouchian J, Asmar R, Poirier O, Larosa E, Guize L, Safar M, Soubrier F, Cambien F. Influence of angiotensin-converting enzyme and angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms on aortic stiffness in normotensive and hypertensive patients. *Circulation*. 94, 698-703. 1993.
122. Bellwon J, Gruchała M, Siebert J, Wasąg B, Ochman K, Targoński R, Dubaniewicz W, Dygaszewicz D, Cieciewicz D, Rynkiewicz A. Polimorfizm A1166C genu receptora AT1 angiotensyny II a ciśnienie tętnicze u osób bez jawnych klinicznie schorzeń miażdżycopochodnych. *Nadciśnienie Tętnicze*. 4, 19-26. 2000.
123. Bloem LJ, Manatunga AK, Tewksbury DA, Pratt JH. The serum angiotensinogen concentration and variants of the angiotensinogen gene in white and black children. *J Clin Invest*. 95, 948-953. 1995.
124. Sethi AA, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. Angiotensinogen gene polymorphism, plasma angiotensinogen, and risk of hypertension and ischaemic heart disease. A meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 23, 1269-1275. 2003.
125. Sethi AA, Nordestgaard BG, Agerholm-Larsen B, Frandsen E, Jensen G, Tybjaerg-Hansen A. Angiotensinogen polymorphisms and elevate blood pressure in the general population. The Copenhagen City Heart Study. *Hypertension*. 37, 875-881. 2001.

126. Jeunemaitre X, Inoue I, Williams C, Charru A, Tichet J, Powers M, Sharma AM, Gimenez-Roqueplo AP, Hata A, Corvol P, Lalouel JM. Haplotypes of angiotensinogen in essential hypertension. *Am J Hum Genet.* 60, 1448-1460. 1997.
127. Hunt SC, Cook NR, Oberman A, Cutler JA, Hennekens CH, Allender PS, Walker WG, Whelton PK, Williams RR. Angiotensinogen genotype, sodium reduction, weight loss, and prevention of hypertension. *Trials of Hypertension Prevention, Phase II. Hypertension.* 32, 393-401. 1998.
128. Ciechanowicz A. Polimorfizm genów układu renina-angiotensyna-aldosteron i choroby układu krążenia. *Terapia.* 10, 14-19. 2001.
129. Arnett DK, Borecki IB, Ludwig EH, Pankow JS, Myers R, Evans G, Folsom AR, Heiss G, Higgins M. Angiotensinogen and angiotensin converting enzyme genotypes and carotid atherosclerosis: the atherosclerosis risk in communities and the NHLBI family heart studies. *Atherosclerosis.* 138, 111-116. 1998.
130. Schmidt R, Schmidt H, Fazekas F, Launer LJ, Niederkorn K, Kapeller P, Lechner A, Kostner GM. Angiotensinogen polymorphism M235T, carotid atherosclerosis, and small-vessel disease-related cerebral abnormalities. *Hypertension.* 38, 110-115. 2001.
131. Bozec E, Lacolley P, Bergaya S, Boutouyrie P, Meneton P, Herisse-Legrand M, Boulanger CM, Alhenc-Gelas F, Kim HS, Laurent S, Dabire H. Arterial stiffness and angiotensinogen gene in hypertensive patients and mutant mice. *J Hypertens.* 22, 1299-1307. 2004.
132. Bozec E, Fassot C, Tropeano AI, Boutouyrie P, Jeunemaitre X, Lacolley P, Dabire H, Laurent S. Angiotensinogen gene M235T polymorphism and reduction in wall thickness in response to antihypertensive treatment. *Clin Sci (Lond).* 105, 637-644. 2003.
133. Chapman CML, Palmer LJ, McQuillan BM, Hung J, Burley J, Hunt C, Thompson PL, Beilby JP. Polymorphisms in the angiotensinogen gene are associated with carotid intimal-medial thickening in females from a community-based population. *Atherosclerosis.* 159, 209-217. 2001.

134. Sarzani R, Dessi-Fulgheri P, Mazzara D, Catalini R, Cola G, Bersigotti G, Siragusa N, Salvi F, Ercolani P, Spagnolo D, Zingaretti O, Serenelli M, Pupita M, Magni CM, Giantomassi L, Pisquini R, Gesuita R, Carle F, Rappelli A. Cardiovascular phenotype of young adults and angiotensinogen alleles. *J Hypertens*. 19, 2171-2178. 2001.
135. Harrap SB, Tzourio C, Cambien F, Poirier O, Raoux S, Chalmers J, Chapman N, Colman S, Leguennec S, MacMahon S, Neal B, Ohkubo T, Woodward M. The ACE I/D polymorphism is not associated with the blood pressure and cardiovascular benefits of ACE inhibition. *Hypertension*. 42, 297-303. 2003.
136. Hingorani AD, Jia H, Stevens PA, Hooper R, Dickerson JE, Brown MJ. Renin-angiotensin system gene polymorphisms influence blood pressure and the response to angiotensin converting enzyme inhibition. *J Hypertens*. 13, 1602-1609. 1995.
137. Tsai CT, Fallin D, Chiang FT, Hwang JJ, Lai LP, Hsu KL, Tseng CD, Liao CS, Tseng YZ. Angiotensinogen gene haplotype and hypertension. Interaction with ACE gene I allele. *Hypertension*. 41, 9-15. 2003.
138. O'Donnell CJ, Lindpaintner K, Larson MG, Rao VS, Ordovas JM, Schaefer EJ, Mayers RH, Levy D. Evidence for association and genetic linkage of the angiotensin-converting enzyme locus with hypertension and blood pressure in man but not in women in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 97, 1766-1772. 1998.
139. Higaki J, Baba S, Katsuya T, Sato N, Ishikawa K, Mannami T, Ogata J, Ogihara T. Deletion allele of angiotensin-converting enzyme gene increases risk of essential hypertension in Japanese men: the Suita Study. *Circulation* 101, 2060-2065. 2000.
140. Agerholm-Larsen B, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. ACE gene polymorphism in cardiovascular disease: meta-analyses of small and large studies in whites. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 20, 484-492. 2000.
141. Balkestein EJ, Wang JG, Struijker-Boudier HA, Barlassina C, Bianchi G, Birkenhager W, Brand E, Den Hond E, Fagard R, Herrmann SM, Van Bortel L,

- Staessen JA. Carotid and femoral intima-media thickness in relation to three candidate genes in a Caucasian population. *J Hypertens.* 20, 1551-1561. 2002.
142. Hung J, McQuillan BM, Nidorf M, Thompson PL, Beilby JP. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and carotid wall thickening in a community population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 19, 1969-1974. 1999.
143. Markus HS, Barley J, Lunt R, Bland JM, Jeffery S, Carter ND, Brown MM. Angiotensin-converting enzyme gene deletion polymorphism. A new risk factor for lacunar stroke but not carotid atheroma. *Stroke.* 26, 1329-1333. 1995.
144. Taniwaki H, Kawagishi T, Emoto M, Shoji T, Hosoi M, Kogawa K, Nishizawa Y, Morii H. Association of ACE gene polymorphism with arterial stiffness in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diab Care.* 22, 1858-1864. 1999.
145. Mattace-Raso FUS, van der Cammen TJM, Sayed-Tabatabaei FA, van Popele NM, Asmar R, Schalekamp MADH, Hofman A, van Duijn CM, Witteman JCM. Angiotensin-converting enzyme polymorphism and common carotid stiffness. The Rotterdam study. *Atherosclerosis.* 174, 121-126. 2004.
146. Watanabe Y, Ishigami T, Kawano Y, Umahara T, Nakamori A, Mizushima S, Hibi K, Kobayashi I, Tamura K, Ochiai H, Umemura S, Ishii M. Angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism and carotid plaques in Japanese. *Hypertension.* 30 (part 2), 569-573. 1997.
147. Balkestein EJ, Staessen JA, Wang JG, van der Heijden-Spek JJ, Van Bortel LM, Barlassina C, Bianchi G, Brand E, Herrmann SM, Struijker-Boudier HA. Carotid and femoral artery stiffness in relation to three candidate genes in a white population. *Hypertension.* 38, 1190-1197. 2001.
148. Safar ME, Lajemi M, Rudnichi A, Asmar R, Benetos A. Angiotensin-converting enzyme D/I gene polymorphism and age-related changes in pulse pressure in subjects with hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 24, 1-5. 2004.
149. Benetos A, Cambien F, Gautier S, Ricard S, Safar M, Laurent S, Lacolley P, Poirier O, Topouchian J, Asmar R. Influence of the angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism on the effects of perindopril and nitrendipine on

- arterial stiffness in hypertensive individuals. *Hypertension*. 28, 1081-1084. 1996.
150. Gardier S, Vincent M, Lantelme P, Rial MO, Bricca G, Milon H. A1166C polymorphism of angiotensin II type 1 receptor, blood pressure and arterial stiffness in hypertension. *J Hypertens*. 22, 2135-2142. 2004.
 151. Diez J, Laviades C, Orbe J, Zalba G, Lopez B, Gonzalez A, Mayor G, Paramo JA, Beloqui O. The A1166C polymorphism of the AT1 receptor gene is associated with collagen type I synthesis and myocardial stiffness in hypertensives. *J Hypertens*. 21, 2085-2092. 2003.
 152. Hindorff LA, Heckbert SR, Tracy R, Tang Z, Psaty BM, Edwards KL, Siscovick DS, Kronmal RA, Nazar-Stewart V. Angiotensin II type 1 receptor polymorphisms in the Cardiovascular Health Study: relation to blood pressure, ethnicity, and cardiovascular events. *Am J Hypertens*. 15, 1050-1056. 2002.
 153. Intersalt: an international study of electrolyte excretion and blood pressure. Results of 24 hour urinary sodium and potassium excretion. Intersalt Cooperative Research Group. *BMJ*. 297, 319-328. 1988.
 154. Denton D, Weisinger R, Mundy NI, Dixson A, Moisson P, Pingard AM, Shade R, Carey D, Ardaillou R. The effect of increased salt intake on blood pressure of chimpanzees. *Nat Med*. 1, 1009-1016. 1995.
 155. Stamler J, Rose G, Stamler R, Elliot P, Dyer A, Marmot M. INTERSALT study findings. Public health and medical card implications. *Hypertension*. 14, 570-577. 1989.
 156. Safar ME. Systolic hypertension in the elderly: arterial wall mechanical properties and the renin-angiotensin-aldosterone system. *J Hypertens*. 23, 673-681. 2005.
 157. Stevens VJ, Obarzanek E, Cook NR, Lee IM, Appel LJ, Smith West D, Milas NC, Mattfeldt-Beman M, Belden M, Bragg C, Millstone M, Raczynski J, Brewer A, Singh B, Cohen J. Trials for the Hypertension Prevention Research Group. Long-term weight loss and changes in blood pressure: results of the Trials of Hypertension Prevention, phase II. *Ann Intern Med*. 134, 1-11. 2001.

158. Safar ME, Thuilliez C, Richard V, Benetos A. Pressure-independent contribution of sodium to large artery structure and function in hypertension. *Cardiovasc Res.* 46, 269-276. 2000.
159. Et-taoui K, Schiavi P, Levy B, Plante G. Sodium intake, large artery stiffness, and proteoglycans in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension.* 38, 1172-1176. 2001.
160. Partovian C, Benetos A, Pommies JP, Mischler W, Safar ME. Effects of a chronic high-salt diet on large artery structure: role of endogenous bradykinin. *Am J Physiol.* 274, H1423-1428H. 1998.
161. Levy BI, Poitevin P, Safar ME. Effect of indapamide on the mechanical properties of the arterial wall in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. *Am J Cardiol.* 65, 28H-32H. 1990.
162. Avolio AP, Deng FQ, Li WQ, Huang ZD, Xing LF, O'Rourke MF. Effects of aging on arterial distensibility in populations with high and low prevalence of hypertension: comparison between urban and rural communities in China. *Circulation.* 71, 202-210. 1985.
163. Avolio AP, Clyde CM, Beard TC, Cooke HM, Kenneth KL, O'Rourke MF. Improved arterial distensibility in normotensive subjects on a low salt diet. *Atherosclerosis.* 6, 166-169. 1986.
164. Kokot F, Ficek R. Patogenetyczne i lecznicze aspekty układu reninowo-angiotensynowo-aldosteronowego (RAA) wczoraj i dziś. *Kardiologia Pol.* 54, 295-301. 2001.
165. Kato H, Suzuki H, Tajima S, Ogata Y, Tominaga T, Sato A, Satuta T. Angiotensin II stimulates collagen synthesis in cultured vascular smooth muscle cells. *J Hypertens.* 9, 17-22. 1991.
166. Van der Kleij FGH, de Jong PE, Henning RH, de Zeeuw D, Navis G. Enhanced responses of blood pressure, renal function, and aldosterone to angiotensin I in the DD genotype are blunted by low sodium intake. *J Am Soc Nephrol.* 13, 1025-1033. 2002.

167. Schmieder RE, Langenfeld MRW, Friedrich A, Schobel HP, Gatzka CD, Weihprecht H. Angiotensin II related to sodium excretion modulates left ventricular structure in human essential hypertension. *Circulation*. 94, 1304-1309. 1996.
168. Tiret L, Rigat B, Visvikis S, Breda C, Corvol P, Cambien F, Soubrier F. Evidence from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. *Am J Hum Genet*. 51, 197-205. 1992.
169. Costerousse O, Allegrini L, Lopez M, Alhenc-Gelas F. Angiotensin I-converting enzyme in human circulating mononuclear cells: genetic polymorphism of expression in T-lymphocytes. *Biochem J*. 290, 33-40. 1993.
170. Danser AHJ, Schalekamp MADH, Bax WA, van den Brink AM, Saxena PR, Riegger GAJ, Schunkert H. Angiotensin-converting enzyme in the human heart. Effect of the deletion/insertion polymorphism. *Circulation*. 92, 1387-1388. 1995.
171. Ueda S, Elliott HL, Morton JJ, Connel JM. Enhanced pressor response to angiotensin I in normotensive men with the deletion genotype (DD) for angiotensin-converting enzyme. *Hypertension*. 25, 1266-1269. 1995.
172. Brown NJ, Blais C, Gandhi SJ, Adam A. ACE insertion/deletion genotype affects bradykinin metabolism. *J Cardiovasc Pharmacol*. 35, 373-377. 1998.
173. Morishita R, Gibbons GH, Ellison KH, Lee W, Zhang L, Yu H, Keneda Y, Ogihara T, Dzau VJ. Evidence for direct local effect of angiotensin in vascular hypertrophy. In vivo gene transfer of angiotensin converting enzyme. *J Clin Invest*. 94, 978-984. 1994.
174. Hiraga H, Oshima T, Watanabe M, Ishida M, Ishida T, Shingu T, Kambe M, Matsuura H, Kajiyama G. Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism and salt sensitivity in essential hypertension. *Hypertension*. 27, 569-572. 1996.
175. Giner V, Poch E, Bragulat E, Oriola J, Gonzalez D, Coca A, de La Sierra A. Renin-angiotensin system genetic polymorphisms and salt sensitivity in essential hypertension. *Hypertension*. 35, 512-517. 2000.

176. Poch E, Gonzalez D, Giner V, Bragulat E, Coca A, de La Sierra A. Molecular basis of salt sensitivity in human hypertension. Evaluation of renin-angiotensin-aldosterone system gene polymorphisms. *Hypertension*. 38, 1204-1209. 2001.
177. Kojima S, Inenaga T, Matsuoka H, Kuramochi M, Omae T, Nara Y, Tamori Y. The association between salt sensitivity of blood pressure and some polymorphic factors. *J Hypertens*. 12, 797-801. 1994.
178. Dengel DR, Brown MD, Ferrel RE, Supiano MA. Role of angiotensin converting enzyme genotype in sodium sensitivity in older hypertensives. *Am J Hypertens*. 14, 1178-1184. 2005.
179. Siani A, Russo P, Cappuccio FP, Iacone R, Venezia A, Russo O, Barba G, Iacoviello L, Strazzullo P. Combination of renin-angiotensin system polymorphisms is associated with altered renal sodium handling and hypertension. *Hypertension*. 43, 598-602. 2004.
180. Kato N, Sugiyama T, Morita H, Kurihara H, Furukawa T, Isshiki T, Sato T, Yamori Y, Yazaki Y. Comprehensive analysis of the renin-angiotensin gene polymorphisms with relation to hypertension in the Japanese. *J Hypertens*. 18, 1025-1032. 2000.
181. Mondry A, Loh M, Liu P, Zhu AL, Nagel M. Polymorphisms of the insertion/deletion ACE and M235T AGT genes and hypertension: surprising new findings and meta-analysis of data. *BMC Nephrology*. 6, 1-11. 2005.
182. Pontremoli R, Ravera M, Viazzi F, Nicoletta C, Berruti V, Leoncini G, Giacomelli F, Bezante GP, Sacchi G, Ravazzolo R, Deferrari G. Genetic polymorphism of the renin-angiotensin system and organ damage in essential hypertension. *Kidney Int*. 57, 561-569. 2000.
183. Tabara Y, Kohara K, Nakukura J, Miki T. Risk factor-gene interaction in carotid atherosclerosis: effect of gene polymorphisms of renin-angiotensin system. *J Hum Genet*. 46, 278-284. 2001.
184. Castellano M, Glorioso N, Cusi D, Sarzani R, Fabris B, Opocher G, Zoccali C, Golin R, Veglio F, Volpe M, Mantero F, Fallo F, Rossi GP, Barlassina C, Tizzoni L, Filigheddu F, Giacche M, Rossi F. Genetic polymorphism of the

renin-angiotensin-aldosterone system and arterial hypertension in the Italian population: the GENIPER Project. *J Hypertens.* 21, 1853-1860. 2003.