

Czy istnieje zależność między polimorfizmem insercyjno-delecyjnym genu ACE a efektem hipotensyjnym i redukcją ciśnienia tętna po leczeniu inhibitorem ACE?

Is it the relationship between ACE gene insertion-deletion polymorphism and hypotensive effect and reduction of pulse pressure after treatment with ACE inhibitor?

Summary

Background The recent years studies in spite of large number of papers concerning the genetic aspect of essential hypertension, especially insertion-deletion polymorphism of ACE gene, show us controversial results and many problems are still unsolved. One of these problems is the role of insertion/deletion polymorphism of ACE gene in the reduction of blood pressure after hypotensive treatment and its influence on cardiovascular complications.

The aim of the study was to search dependence between insertion-deletion polymorphism of ACE gene and reduction of blood pressure and assessment of pulse pressure changes after treatment with ACE inhibitor patients with mild-to-moderate essential hypertension.

Material and methods The study included 64 patients with mild-to-moderate essential hypertension (41 male and 23 female) without history of myocardial infarction, stroke, heart failure, and renal failure. The mean age was 40.48 ± 16.39 years. Before treatment the blood samples for genetic analysis (polymerase chain reaction) were taken. Then each patient received perindopril in dose 4 mg/d once a day in the morning. After one month, patients with poor blood pressure control received doubled dose of perindopril. Before treatment, after 4 weeks and after 8 weeks of treatment with

ACEI the blood pressure measurement with traditional method and ABPM were performed.

Results The ACE genotype distribution was: II $n = 17$ (27%), ID $n = 29$ (45%), DD $n = 18$ (28%). There were no statistically significant differences in reduction of blood pressure after treatment with perindopril between genotypes both in traditional method measurement and ABPM. The reduction of pulse pressure both in traditional measurements and ABPM after 8 weeks of treatment was significantly bigger (respectively $p = 0,027$ and $p = 0,036$) for DD genotype.

Conclusions The insertion/deletion polymorphism of ACE gene is not related to reduction of blood pressure after treatment with ACE inhibitor in patients with mild-to-moderate essential hypertension. There is a statistically significant reduction of pulse pressure after treatment with ACE inhibitor in patients with mild-to-moderate essential hypertension. This reduction is significantly higher in patients with DD genotype comparing with II and ID genotypes.

key words: hypertension, insertion-deletion polymorphism, ACE gene, hypotensive therapy
Arterial Hypertension 2007, vol. 11, no 5, pages 384–394.

Adres do korespondencji: dr med. Karolina Jankowska
Katedra i Klinika Hipertensjologii, Angiologii i Chorób Wewnętrznych
ul. Długa 1/2, 61–848 Poznań
tel.: (061) 854–90–90
faks.: (061) 854–90–86

 Copyright © 2007 Via Medica, ISSN 1428–5851

Wstęp

Genetyka nadciśnienia tętniczego, podobnie jak genetyka innych jednostek chorobowych, wzbudza coraz szersze zainteresowanie. Już na początku ubie-

głego stulecia wysunięto podejrzenia, że nadciśnienie pierwotne może być dziedziczne. Przeprowadzone w latach 70. XX wieku badania rodzin oraz bliźniąt jedno- i dwujajowych pozwoliły stwierdzić, że ciśnienie tętnicze jest w znacznej mierze uwarunkowane genetycznie, niemniej jednak istotną rolę odgrywa wpływ środowiska. W badaniu, które w 1976 r. przeprowadzili Annet i wsp., wykazano, że w zakresie ciśnienia tętniczego istnieje silniejsza współzależność między rodzeństwem naturalnym niż przybrany [1].

Obecnie nadciśnienie tętnicze, poza kilkoma rzadkimi formami spowodowanymi mutacjami pojedynczych genów, uważa się za chorobę wielogenową [2]. Nowe spojrzenie na patofizjologię nadciśnienia uzyskano dzięki genetyce molekularnej umożliwiającej badanie polimorfizmu genetycznego. Dokładnie przeanalizowano cały szereg genów kandydujących, czyli takich, które podejrzewa się o związek z daną jednostką chorobową na podstawie znajomości ich produktów białkowych oraz roli tych produktów w procesach fizjologicznych [3]. Szczególnie interesujące okazały się geny z zakresu układu renina–angiotensyna–aldosteron (układu RAA). Jednym z enzymów układu RAA jest enzym konwertujący angiotensynę (ACE, *angiotensin-converting enzyme*), zwany również kininazą II. Jest on metaloproteazą zawierającą dwie grupy cynkowe [4]. Konwertaza angiotensyny nie jest enzymem swoistym. Oprócz roli, jaką odgrywa w układzie RAA, bierze też udział w inaktywacji bradykininy [5]. Obecnie szerokie zainteresowanie wzbudza gen ACE oraz jego polimorfizm insercyjno/delecyjny (I/D). Gen ten zlokalizowany jest na długim ramieniu chromosomu 17 w regionie 23 (17 q 23). Zbudowany jest z 26 eksonów i 25 intronów i posiada wielkość 21 kb. Jego polimorfizm I/D polega na insercji — I (obecności) lub delecji — D (braku) 287 par zasad repetytywnej sekwencji Alu w intronie 16 [6, 7]. Możliwe są zatem trzy genotypy: II, ID i DD. Nie wykazano związku między poszczególnymi genotypami genu ACE a wystąpieniem nadciśnienia tętniczego. Co prawda Zee i wsp. obserwowali u chorych z nadciśnieniem tętniczym częstsze występowanie allelu I [8]. Pojawiły się także opracowania, według których u chorych z nadciśnieniem tętniczym częściej występuje genotyp DD [9]. W pozostałych pracach dotyczących tego zagadnienia nie potwierdzono jednak związku między genotypem genu ACE a wystąpieniem nadciśnienia tętniczego [10–12]. Wykazano natomiast, że pacjenci z genotypem DD są predysponowani do zapadania na inne choroby układu sercowo-naczyniowego, a także do powikłań nadciśnienia tętniczego. I tak genotyp ten ma związek z prze-

rostem lewej komory serca. W badaniach Schunkerta i wsp. [13], gdzie przerost oceniano na podstawie zapisu EKG, wykazano, że zależność ta dotyczy tylko mężczyzn. W podobnym badaniu, w którym przerost stwierdzano na podstawie kryteriów echokardiograficznych, wykazano, że osoby z genotypem DD są predysponowane do przerostu lewej komory serca bez względu na płeć [14]. Stwierdzono także, że obecność allelu D jest przyczyną wzrostu ryzyka wystąpienia choroby niedokrwiennej serca z zawałem łącznie [15, 16]. Zaobserwowano większą częstość genotypu DD u chorych z kardiomiopatią niedokrwinną oraz idiopatyczną w porównaniu z grupą kontrolną [17].

Interesujące okazało się nie tylko określenie ewentualnego związku między polimorfizmem genów a wysokością ciśnienia tętniczego, lecz również ocena wpływu tych polimorfizmów na odpowiedź hipotensyjną w trakcie terapii, gdyż skuteczność leczenia nadciśnienia tętniczego jest często niewystarczająca. O tym, że poszczególni pacjenci różnie odpowiadają na terapię hipotensyjną, wiadomo już od ponad 40 lat. W wieloletnich badaniach wykazano, że leki hipotensyjne stosowane w monoterapii powodują oczekiwany efekt hipotensyjny zaledwie u około 40% chorych i nie można przewidzieć, w przypadku jakiego pacjenta okażą się w pełni skuteczne. Szczególne zainteresowanie wzbudza podobieństwo odpowiedzi na terapię wśród członków rodzin [18]. W przypadku polimorfizmu I/D genu ACE wiadomo, że osoczowa aktywność ACE jest o około 60% wyższa u homozygot DD niż u homozygot II, przyjmując wartości pośrednie dla heterozygot [11, 19]. To skłoniło badaczy do wysunięcia hipotezy, że różnice w odpowiedzi hipotensyjnej na leczenie inhibitorem ACE mogą być zależne od posiadanego genotypu. Można było przypuszczać, że efekt inhibicji ACE będzie najbardziej widoczny u homozygot DD ze względu na najwyższą aktywność tego enzymu.

Ciekawym zagadnieniem może okazać się ocena zmiany ciśnienie tętna (PP, *pulse pressure*) w czasie terapii inhibitorem ACE. Ciśnienie tętna to różnica między ciśnieniem skurczowym i rozkurczowym. Wykazano, że podwyższone PP jest niezależnym czynnikiem ryzyka śmiertelności z przyczyn sercowo-naczyniowych [20, 21]. Ponadto wysokie PP koreluje ze wskaźnikami sztywności tętnic i jest charakterystyczne dla osób starszych, z towarzyszącym izolowanym nadciśnieniem skurczowym [22]. Ponieważ polimorfizm genu dla ACE, a ściślej jego genotyp DD, jest — podobnie jak wysokie PP — związany z podwyższonym ryzykiem sercowo-naczyniowym i powikłaniami nadciśnienia tętniczego, nasuwa się myśl, aby sprawdzić zależność między tymi

dwoma parametrami, a zwłaszcza zachowaniem się PP po leczeniu inhibitorem ACE w zależności od polimorfizmu genu ACE.

Celem pracy było poszukiwanie zależności między insercyjno-delecyjnym polimorfizmem genu ACE a odpowiedzią hipotensyjną i redukcją ciśnienia tętna po leczeniu inhibitorem ACE pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym łagodnym i umiarkowanym.

Material i metody

Badaniami objęto 70 osób, 44 mężczyzn i 26 kobiet z rozpoznaniem nadciśnieniem tętniczym pierwotnym łagodnym lub umiarkowanym (wg kryteriów ESH/ESC 2003 r. [23]), do tej pory nie poddanych leczeniu (54 osoby) lub leczonych jednym lekiem hipotensyjnym (16 osób), w wieku 18–70 lat. Średni wiek chorych wynosił $41,0 \pm 16,2$ roku. Kryteriami wykluczającymi z badania były: nadciśnienie tętnicze wtórne, choroby współistniejące (kardiomiopatie i wady zastawkowe, niewydolność krążenia, choroby hematologiczne, nowotwory złośliwe, choroby psychiczne), przebyty zawał serca, przebyty udar mózgu, niewydolność nerek, niewydolność wątroby, ciąża. W czasie trwania badania z grupy wykluczono 6 pacjentów z następujących przyczyn: niewystarczająca współpraca ze strony pacjenta (niedotrzymywanie terminów wizyt, pomijanie kolejnych dawek leku) — 3 osoby, niemożność kontynuowania terapii inhibitorem ACE z powodu wystąpienia uporczywego suchego kaszlu — 2 osoby, wykrycie wcześniej nierozpoznanej wady zastawkowej — 1 osoba. Ostatecznie w analizach statystycznych ujęto 64 chorych, w tym 41 mężczyzn i 23 kobiety. Wszyscy pacjenci przed przystąpieniem do udziału w badaniach zostali poinformowani o ich przebiegu i wyrazili na nie pisemną zgodę. Plan badania przed rozpoczęciem został przedstawiony niezależnej Komisji Bioetycznej przy Akademii Medycznej w Poznaniu i przez nią zaaprobowany.

Badanie trwało 8–10 tygodni i zostało podzielone na trzy okresy:

— okres I — trwający 2 tygodnie, w czasie których pacjenci pozostawali bez leków hipotensyjnych (*wash-out*); nie dotyczył chorych, którzy do tej pory nie byli leczeni;

— okres II — trwający 4 tygodnie, w czasie których pacjenci otrzymywali perindopril w dawce 4 mg na dobę;

— okres III — trwający 4 tygodnie, w czasie których pacjenci z niezadowolającą kontrolą ciśnienia tętniczego otrzymywali zwiększoną dawkę perindo-

prilu (8 mg/d.); pozostali przyjmowali lek jak poprzednio. Ze względów praktycznych dopuszczono możliwość odchylenia długości poszczególnych faz leczenia o ± 3 dni.

W czasie trwania badania pacjent był zobowiązany do cotygodniowych wizyt kontrolnych. Ich plan wyglądał następująco:

— wizyta 1 — w czasie której pacjent został poinformowany o planie badania, zapoznany z jego warunkami i poproszony o wyrażenie pisemnej zgody na wzięcie w nim udziału; wykonany został również tradycyjny pomiar ciśnienia tętniczego;

— wizyta 2 — kontrolna, po tygodniu bez przyjmowania leków; pomiar ciśnienia tętniczego;

— wizyta 3 — rozpoczynająca właściwe badanie, po okresie 2 tygodni bez przyjmowania leków; w trakcie wizyty zbierano szczegółowy wywiad, przeprowadzono badania przedmiotowe, mierzono masę ciała, wzrost, obwód talii, brzucha oraz ramion; zmierzono także ciśnienie tętnicze metodą tradycyjną i metodą automatyczną 24-godziną (ABPM, *ambulatory blood pressure monitoring*), pobrano krew do badań genetycznych; włączony został również lek hipotensyjny — perindopril — w dobowej dawce 4 mg;

— wizyty 4, 5, 6 — cotygodniowe wizyty kontrolne, podczas których mierzono ciśnienie tętnicze;

— wizyta 7 — po 4 tygodniach od włączenia leczenia: podczas wizyty mierzono ciśnienie tętnicze metodą tradycyjną oraz w ABPM; pacjentom, u których nie udało się uzyskać zadowalającego poziomu ciśnienia tętniczego (tzn. gdy wartość ciśnienia w pomiarze tradycyjnym była większa niż 140/90 mm Hg i/lub w ABPM wartość ciśnienia średniego z okresu aktywności dziennej była większa niż 135/85 mm Hg) zwiększano dawkę leku do 8 mg na dobę;

— wizyta 8, 9, 10 — cotygodniowe wizyty kontrolne: pomiar ciśnienia tętniczego (do wizyt tych zobowiązani byli pacjenci, u których na 7 wizycie stwierdzono niewystarczającą kontrolę ciśnienia tętniczego);

— wizyta 11 — kończąca badanie (po 8 tygodniach leczenia): wykonany został pomiar ciśnienia metodą tradycyjną oraz ABPM.

Tradycyjny pomiar ciśnienia tętniczego, obowiązujący w czasie każdej wizyty, wykonywany był sfigmomanometrem rtęciowym, zgodnie z zaleceniami ESH z 2003 r. [24]. Pomiar wykonywano dwukrotnie w odstępach jednonminutowych, z dokładnością do 2 mm Hg. Z uzyskanych wyników wyliczano średnią arytmetyczną.

Do ABPM używano aparatu SpaceLabs model 90207–30 firmy SpaceLabs Inc. Pomiar rozpoczynano między godziną 8.00 a 10.00. Aparat zakładano

Tabela I. Kliniczna charakterystyka grupy badanej**Table I.** Clinical characteristic of the study group

	Cała grupa (n = 64)	II (n = 17)	ID (n = 29)	DD (n = 18)
Wiek (lata)	40,48 ± 16,39	40,59 ± 16,33	38,55 ± 15,61	43,50 ± 18,08
Czas trwania nadciśnienia (lata)	3,18 ± 3,50	3,57 ± 3,65	3,02 ± 4,09	3,05 ± 2,28
Kobiety/Mężczyźni	23/41	6/11	10/19	7/11
BMI [kg/m ²]	27,42 ± 4,12	27,59 ± 3,66	28,15 ± 4,77	26,10 ± 3,17
WHR [cm/cm]	0,88 ± 0,09	0,88 ± 0,10	0,89 ± 0,10	0,85 ± 0,06
Palacze tytoniu (tak/nie)	17/47	2/15	8/21	7/11
Wywiad rodzinny w kierunku nadciśnienia tętniczego (dodatni/ujemny)	52/12	14/3	21/8	17/1

BMI (*body mass index*) — wskaźnik masy ciała; WHR (*waist to hip ratio*) — wskaźnik talia-biodra

na ramię wybrane uprzednio do pomiarów tradycyjnych. Godziny między 6.00 a 22.00 przyjęto za okres aktywności dziennej, zaś godziny między 22.00 a 6.00 za okres snu. Pomiary dokonywane były co 30 minut przez cały okres 24 godzin. U pacjentów, u których wystąpiło zbyt wiele odczytów błędnych, powtórzo- no badanie.

Krew do badania polimorfizmu genu ACE pobierano do próbki z EDTA (kwas etylenodiamino-tetraoctowy). DNA izolowano z 450 μ l krwi obwodowej przy użyciu detergentowej metody nieorganicznej, nieenzymatycznej [25]. W celu określenia genotypu ACE przeprowadzono łańcuchową reakcję polimerazy (PCR, *polymerase chain reaction*) z użyciem dwóch starterów, które łączą się z odcinkami DNA otaczającymi insert w obrębie 16 intronu: starter 1: (sens) 5' — CTG GAC ACC ACT CCC ATC CTT TCT — 3' i starter 2: (antysens) 5' — GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T — 3'. Otrzymane produkty PCR-u rozdzielano elektroforetycznie w 2-procentowym żelu agarozowym (elektroforeza przy napięciu 80 V przez 60 minut) i identyfikowano, stosując barwienie bromkiem etydyny. Wizualizacji dokonywano w świetle UV przy długości fali λ 254 nm. Każdą próbkę zawierającą genotyp DD analizowano dwukrotnie [26].

W analizie statystycznej zastosowano metody parametryczne dla obserwowanych wartości ciśnień i PP. Dane przedstawiono jako średnią arytmetyczną wraz z pojedynczym odchyleniem standardowym lub medianę wraz z odchyleniem przeciętnym. Istotność różnic (median) szacowano za pomocą analizy wariancji oraz testu *t*-Studenta. Jako kryterium istotności statystycznej przyjęto wartości $p < 0,05$. W obliczeniach wykorzystano pakiet programów statystycznych CSS Statistica v. 6.0.

Wyniki

Badanie ukończyło 64 pacjentów. Po uwzględnieniu polimorfizmu insercyjno-delecyjnego genu ACE chorych podzielono na trzy grupy: II — $n = 17$ (27%), ID — $n = 29$ (45%), DD — $n = 18$ (28%). Charakterystykę kliniczną badanej populacji zaprezentowano w tabeli I. Nie odnotowano istotnych statystycznie różnic między poszczególnymi genotypami.

Średnie wartości ciśnienia tętniczego uzyskane w pomiarach tradycyjnych i ABPM przed leczeniem oraz po 4 i 8 tygodniach leczenia przedstawiono w tabeli II. Poszczególne genotypy nie różniły się w sposób istotny statystycznie w zakresie ciśnienia skurczowego (SBP, *systolic blood pressure*) i rozkurczowego (DBP, *diastolic blood pressure*). Spadki SBP i DBP w pomiarach tradycyjnych zarówno po 4 tygodniach leczenia, jak i po 8 tygodniach były istotne dla całej grupy oraz dla poszczególnych podgrup po uwzględnieniu podziału na genotypy, jednakże wielkość redukcji SBP i DBP nie różniła się w sposób istotny statystycznie między poszczególnymi genotypami (ryc. 1, ryc. 2). W ABPM odnotowano istotne spadki SBP i DBP zarówno po 4 tygodniach leczenia, jak i po 8 tygodniach dla całej grupy oraz dla poszczególnych podgrup po uwzględnieniu podziału na genotypy z wyjątkiem SBP dla homozygot II, jednak wielkość redukcji SBP i DBP nie różniła się w sposób istotny statystycznie pomiędzy poszczególnymi genotypami (ryc. 3, ryc. 4).

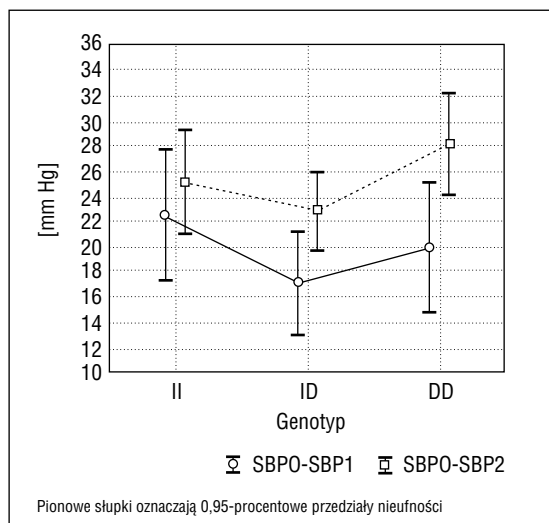
Skuteczność leczenia inhibitorem ACE w monoterapii po miesiącu leczenia wyniosła 40,63% (perindopril w dawce 4 mg/d.). Po dwóch miesiącach terapii oraz zwiększeniu dawki perindoprilu do 8 mg/d. u 38 chorych z uprzednio niezadowolającą kontrolą ciśnienia tętniczego odsetek osób, u których stwierdzano prawidłowe wartości ciśnienia zarówno w po-

Tabela II. Średnie wartości ciśnienia tętniczego uzyskane w pomiarach tradycyjnych i ABPM

Table II. Mean values of blood pressure in traditional measurements and ABPM

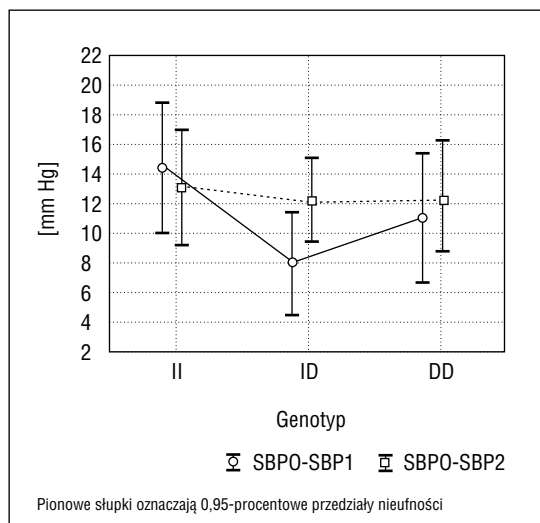
	Cała grupa (n = 64)	II (n = 17)	ID (n = 29)	DD (n = 18)
SBP_0 [mm Hg]	152,76 ± 9,40	151,47 ± 7,91	152,78 ± 10,78	153,94 ± 8,60
SBP_1 [mm Hg]	133,35 ± 12,52	128,88 ± 11,26	135,60 ± 12,80	133,94 ± 12,76
SBP_2 [mm Hg]	127,83 ± 8,18	126,41 ± 6,34	129,90 ± 9,31	125,83 ± 7,32
DBP_0 [mm Hg]	93,01 ± 8,65	91,41 ± 5,18	93,95 ± 10,86	93,00 ± 7,35
DBP_1 [mm Hg]	82,34 ± 10,38	76,88 ± 8,26	85,74 ± 11,97	82,00 ± 7,02
DBP_2 [mm Hg]	80,44 ± 7,31	78,23 ± 5,51	81,69 ± 8,42	80,50 ± 6,71
24_SBP_0 [mm Hg]	134,56 ± 12,39	133,59 ± 8,80	134,93 ± 12,86	134,89 ± 14,90
24_SBP_1 [mm Hg]	127,69 ± 11,05	129,76 ± 8,95	126,83 ± 11,85	127,11 ± 11,82
24_SBP_2 [mm Hg]	126,34 ± 9,82	128,35 ± 7,10	125,93 ± 10,70	125,11 ± 10,75
24_DBP_0 [mm Hg]	81,27 ± 10,16	79,29 ± 7,50	82,62 ± 10,94	80,94 ± 11,19
24_DBP_1 [mm Hg]	77,25 ± 9,50	75,71 ± 6,95	78,86 ± 10,97	76,11 ± 9,07
24_DBP_2 [mm Hg]	76,59 ± 7,98	75,06 ± 6,93	77,90 ± 8,20	75,94 ± 8,62

SBP_0, DBP_0 — ciśnienie skurczowe i rozkurczowe w pomiarze tradycyjnym przed leczeniem
 SBP_1, DBP_1 — ciśnienie skurczowe i rozkurczowe w pomiarze tradycyjnym po 4 tygodniach leczenia
 SBP_2, DBP_2 — ciśnienie skurczowe i rozkurczowe w pomiarze tradycyjnym po 8 tygodniach leczenia
 24_SBP_0, 24_DBP_0 — ciśnienie skurczowe i rozkurczowe w pomiarze 24-godzinnym przed leczeniem
 24_SBP_1, 24_DBP_1 — ciśnienie skurczowe i rozkurczowe w pomiarze 24-godzinnym po 4 tygodniach leczenia
 24_SBP_2, 24_DBP_2 — ciśnienie skurczowe i rozkurczowe w pomiarze 24-godzinnym po 8 tygodniach leczenia



Rycina 1. Wielkość redukcji ciśnienia skurczowego w pomiarach tradycyjnych dla poszczególnych genotypów po 4 tygodniach (SBPO-SBP1) i po 8 tygodniach (SBPO-SBP2) leczenia

Figure 1. The reduction of systolic blood pressure in traditional measurements for particular genotypes after 4 (SBPO-SBP1) and 8 (SBPO-SBP2) weeks of treatment



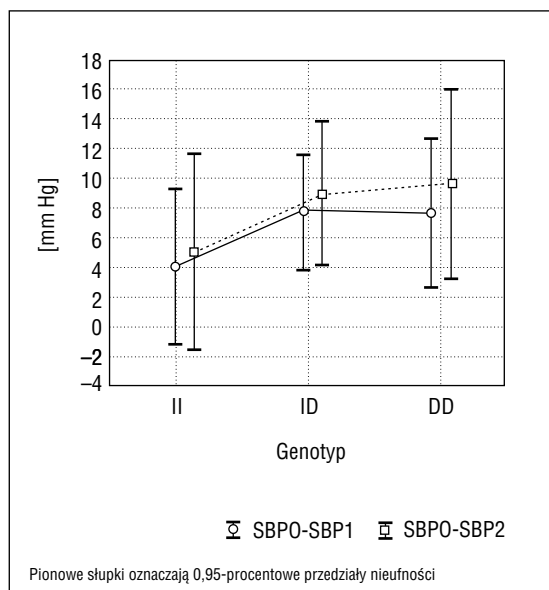
Rycina 2. Wielkość redukcji ciśnienia rozkurczowego w pomiarach tradycyjnych dla poszczególnych genotypów po 4 tygodniach (DBPO-DBP1) i po 8 tygodniach (DBPO-DBP2) leczenia

Figure 2. The reduction of diastolic blood pressure in traditional measurements for particular genotypes after 4 (DBPO-DBP1) and 8 (DBPO-DBP2) weeks of treatment

miarze tradycyjnym, jak i w ABPM, wyniósł 45,31%. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy genotypami w skuteczności leczenia inhibitorem ACE.

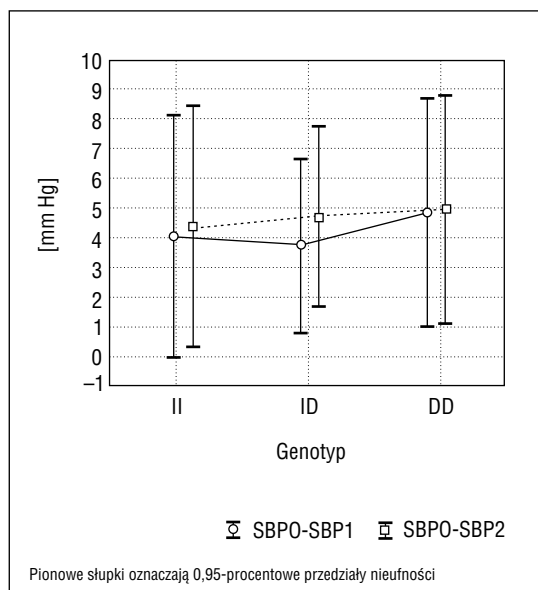
Średnie wartości PP wyliczonego na podstawie pomiarów tradycyjnych i ABPM — przed leczeniem

i po 8 tygodniach podawania perindoprilu — przedstawiono w tabeli III. Nie odnotowano istotnych statystycznie różnic w zakresie średnich wartości PP przed leczeniem i po leczeniu inhibitorem ACE między poszczególnymi genotypami. W pomiarach tradycyjnych obniżenie PP po 8 tygodniach leczenia in-



Rycina 3. Wielkość redukcji ciśnienia skurczowego w ABPM dla poszczególnych genotypów po 4 tygodniach (SBP0-SBP1) i po 8 tygodniach (SBP0-SBP2) leczenia

Figure 3. The reduction of systolic blood pressure in ABPM for particular genotypes after 4 (SBP0-SBP1) and 8 (SBP0-SBP2) weeks of treatment



Rycina 4. Wielkość redukcji ciśnienia rozkurczowego w ABPM dla poszczególnych genotypów po 4 tygodniach (DBP0-DBP1) i po 8 tygodniach (DBP0-DBP2) leczenia

Figure 4. The reduction of diastolic blood pressure in ABPM for particular genotypes after 4 (DBP0-DBP1) and 8 (DBP0-DBP2) weeks of treatment

Tabela III. Średnie wartości ciśnienia tętna (PP) przed leczeniem i po 8 tygodniach podawania perindoprilu w pomiarach tradycyjnych i ABPM

Table III. Mean values of pulse pressure (PP) before and after 8 weeks of treatment with perindopril in traditional measurements and ABPM

	Cała grupa (n = 64)	II (n = 17)	ID (n = 29)	DD (n = 18)
Ciśnienie tętna (pomiar tradycyjny) przed leczeniem [mm Hg]	59,75 ± 8,59 ^a	60,06 ± 8,32 ^b	58,83 ± 8,84 ^c	60,94 ± 8,74 ^d
Ciśnienie tętna (pomiar tradycyjny) po leczeniu [mm Hg]	47,39 ± 7,41 ^a	48,18 ± 6,11 ^b	48,21 ± 8,09 ^c	45,33 ± 7,37 ^d
Ciśnienie tętna (ABPM) przed leczeniem [mm Hg]	53,30 ± 9,13 ^e	54,29 ± 7,70	52,31 ± 10,21	53,94 ± 8,85 ^f
Ciśnienie tętna (ABPM) po leczeniu [mm Hg]	49,75 ± 9,19 ^e	53,29 ± 6,77	48,03 ± 10,57	49,17 ± 8,21 ^f

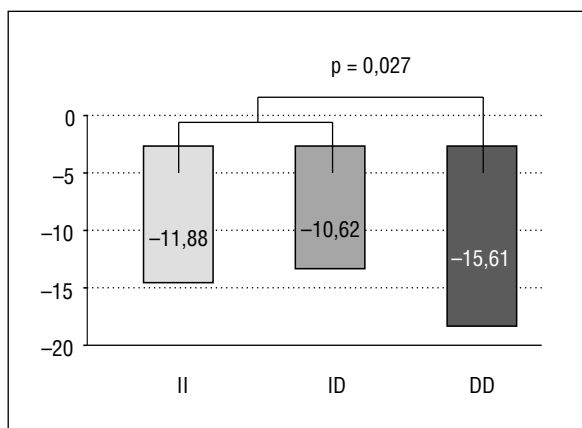
^ap < 0,0000001; ^bp = 0,00001; ^cp < 0,0000001; ^dp < 0,0000001; ^ep = 0,001; ^fp = 0,0025

hibitorem ACE uzyskało istotność statystyczną zarówno dla całej grupy badanej ($p < 0,0000001$), jak i poszczególnych genotypów (II $p = 0,00001$; ID $p < 0,0000001$; DD $p < 0,0000001$). Wielkość redukcji PP w pomiarach tradycyjnych po 8 tygodniach leczenia inhibitorem ACE jest istotnie statystycznie większa ($p = 0,027$) dla genotypu DD ($15,61 \pm 6,97$ mm Hg) w porównaniu z pozostałymi dwoma genotypami ($11,09 \pm 7,24$ mm Hg) (ryc. 5). W ABPM obniżenie PP po 8 tygodniach leczenia inhibitorem ACE uzyskało istotność statystyczną dla całej grupy badanej ($p = 0,001$) oraz dla genotypu DD ($p = 0,0025$). Wielkość redukcji PP w ABPM po 8 tygo-

dniach leczenia ACEI jest istotnie statystycznie większa ($p = 0,036$) dla genotypu DD ($4,77 \pm 6,31$ mm Hg) w porównaniu z genotypem II ($1,00 \pm 3,37$) (ryc. 6).

Dyskusja

Niezadowolająca skuteczność leczenia hipotensyjnego skłoniła badaczy do poszukiwań przyczyn tego zjawiska. Jedną z nich mogą być różnice genetyczne między poszczególnymi osobnikami. Szczególnie zainteresowanie wzbudzają polimorfizmy, czyli róż-

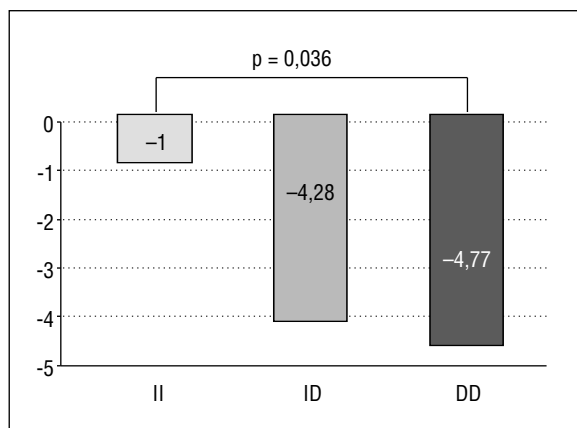


Rycina 5. Wielkość redukcji ciśnienia tętna (w mm Hg) w pomiarach tradycyjnych po 8 tygodniach leczenia perindoprilem

Figure 5. Reduction of pulse pressure (mm Hg) in traditional measurements after 8 weeks of treatment with perindopril

ne warianty jednego genu. Wśród tych wiązanych z występowaniem nadciśnienia tętniczego wyróżnia się polimorfizm insercyjno-delecyjny genu ACE. Jak już wcześniej wspomniano, obecność genotypu DD warunkuje wyższą osoczną aktywność ACE [11, 19]. Fakt ten sprawił, że podjęto poszukiwanie różnic w odpowiedzi na terapię hipotensyjną między chorymi w zależności od ich genotypu. W momencie rozpoczęcia zbierania materiału do niniejszej pracy nie były jeszcze znane wyniki dużych opracowań genetycznych, jak na przykład badanie GenHAT. Można było domniemywać, iż pacjenci z genotypem DD, w związku z wyższym stężeniem ACE, będą lepiej reagować na leczenie inhibitorem ACE. Niektóre dane z piśmiennictwa rzeczywiście potwierdzają tę hipotezę. Należy do nich praca Stavroulakisa i wsp., którzy objęli badaniem 104 chorych z nadciśnieniem tętniczym, wcześniej niepoddanych leczeniu. Po 6-miesięcznej terapii fosinoprilem w dawce dobowej 20 mg uzyskano lepszą odpowiedź hipotensyjną, zarówno w zakresie SBP jak i DBP, u homozygot DD [27]. Podobne wyniki jak Stavroulakis i wsp. otrzymali Li i wsp.: wśród 89 pacjentów z nadciśnieniem tętniczym pierwotnym po dwumiesięcznym leczeniu benazeprilem w dobowej dawce 10 mg stwierdzono większą redukcję SBP i DBP u chorych z genotypem DD [28].

Niektórzy autorzy otrzymali jednak całkowicie odmiennie rezultaty. Ueda i wsp. badali odpowiedź ciśnienia tętniczego u zdrowych mężczyzn po dożylnym podaniu enalaprilatu [29]. Wśród przebadanych osób większą i dłużej trwającą redukcję ciśnienia tętniczego uzyskano u homozygot II. Również Ohmichi i wsp. w swej pracy u 57 chorych z nadciśnieniem tętniczym po 6-tygodniowym leczeniu imidaprilem w dawce 5 mg na dobę odnotowali istotnie wyższy



Rycina 6. Wielkość redukcji ciśnienia tętna (w mm Hg) w ABPM po 8 tygodniach leczenia perindoprilem

Figure 6. Reduction of pulse pressure (mm Hg) in ABPM after 8 weeks of treatment with perindopril

spadek DBP u pacjentów z genotypem II. Dla redukcji SBP różnice między poszczególnymi genotypami nie były istotne [30].

Niemniej jednak najczęściej powtarzającym się wnioskiem z badań nad polimorfizmem insercyjno-delecyjnym genu ACE i odpowiedzią hipotensyjną na leczenie inhibitorem ACE jest brak zależności między tymi dwoma czynnikami. Taki wynik uzyskali Dudley i wsp. łącznie u 107 pacjentów, u których stosowanym inhibitorem ACE był lisinopril w dobowej dawce 10 mg. Ponadto niektórzy z nich otrzymywali także atenolol i nifedipinę SR. Nie wpłynęło to jednak na powyższy wynik. Dodatkowo w pracy tej stwierdzono brak związku między redukcją ciśnienia tętniczego a polimorfizmem M235T genu dla angiotensynogenu [31]. Podobnie Hingorani i wsp. na podstawie wyników badań 102 chorych nie odnotowali zależności między polimorfizmem ACE a podawaniem przez 4 tygodnie inhibitora ACE. Ponadto określono, że nie ma takiego związku także w przypadku polimorfizmu A1166C genu dla receptora AT₁, za to znaczenie prawdopodobnie ma polimorfizm M235T genu dla angiotensynogenu, gdzie lepszy efekt hipotensyjny uzyskano u osób z allelem T235 [32]. Kolejnym potwierdzeniem braku zależności między polimorfizmem genu ACE a efektem hipotensyjnym po podaniu inhibitora ACE jest praca Nakano i wsp. [33]. Reakcja ciśnienia tętniczego na podanie 50 mg kaptoprilu u 82 chorych była niezależna od genotypu. Za to dodatkowo korelowała z aktywnością reninową osocza.

Również nowsze badania przynoszą podobne rezultaty odnośnie redukcji ciśnienia. Yu i wsp. obserwowali 517 chorych, którym podawano imidapril w dawce 5–10 mg/dobę lub benazepril w dawce 10–20 mg/dobę przez 6 tygodni. Polimorfizm genu ACE

nie miał wpływu na efekty leczenia [34]. Także u 5688 osób spośród pacjentów biorących udział w badaniu *The Perindopril Protection Against Recurrent Stroke Study* (PROGRESS), u których oznaczono genotyp, nie stwierdzono zależności między polimorfizmem genu ACE a redukcją ciśnienia tętniczego po miesięcznej terapii perindoprilem, podobnie jak u 2 828 chorych, którzy otrzymywali perindopril przez następne 4 lata [35]. W roku 2005 ogłoszono wyniki badania *The Genetics of Hypertension-Associated Treatment Study* (GenHAT). W badaniu tym oznaczono genotyp I/D u 37 939 pacjentów, a następnie włączono leczenie chlortalidonem (13 679 osób), amlodipiną (8069 osób), lisinoprilem (8109 osób) i doksazosyną (8082 osoby). W żadnym z wymienionych przypadków nie uzyskano związku między genotypem chorego a odpowiedzią na stosowaną przez 6 miesięcy terapię [36].

W badaniach własnych uzyskany wynik potwierdził większość danych z piśmiennictwa. Nie stwierdzono zależności między polimorfizmem insercyjno-delecyjnym genu ACE a odpowiedzią na leczenie inhibitorem ACE, w tym przypadku perindoprilem. W jaki sposób można tłumaczyć uzyskane wyniki oraz fakt, że istnieją pewne rozbieżności w opiniach dotyczących tego zagadnienia? Wielu autorów zwróciło uwagę na wyższą osoczną aktywność ACE u homozygot DD [27, 31, 33, 35], choć jak się okazuje nie wiąże się on z wyższą aktywnością angiotensyny II [27, 32], czy odpowiedzią na leczenie inhibitorem ACE [29, 35]. Ponadto zależność między genotypem ACE a aktywnością ACE nie dotyczy czarnoskórych pacjentów [30, 35, 37] — choć w przypadku niniejszej pracy nie miało to znaczenia, gdyż przebadana populacja składała się wyłącznie z osób rasy białej. Ohmichi i wsp. w swej pracy sugerują, że w odpowiedzi na leczenie inhibitorem ACE istotniejsza od bezwzględnej aktywności ACE jest jej procentowa redukcja. Zjawisko to jego zdaniem jest bardziej nasilone u osób będących homozygotami II, stąd pacjenci ci mają lepiej reagować na leczenie inhibitorem ACE [30]. W pracy Uedy i wsp. pojawia się stwierdzenie, że różnice w odpowiedzi na leczenie mogą być uwarunkowane dawką inhibitora ACE. Duże dawki inhibitora ACE hamują aktywność ACE powyżej 95%. Może to maskować różnice osobniczej reakcji na terapię. Dlatego zdaniem autora w celu określenia wpływu genotypu na stosowane leczenie najlepiej zastosować taką dawkę leku, aby uzyskać submaksymalną blokadę ACE [29]. Zaznaczyć należy także, że przy ocenie odpowiedzi na inhibitor ACE trzeba określić, czy chodzi o efekt po podaniu jednorazowej dawki, czy o terapię przewlekłą, ponieważ są one uwarunkowane różnymi mecha-

mi. Reakcja „ostra” zależy głównie od wazodylatacji spowodowanej redukcją osoczowej aktywności angiotensyny II i jest ściśle związana z aktywnością układu RAA. Natomiast w przypadku dłuższej trwającej terapii inhibitorem ACE znaczenia nabiera również modyfikacja gospodarki sodowej, struktura naczyń, wazodylatacja zależna od czynności śródbłonna, a także aktywność układu współczulnego [32–34]. Co więcej, zaobserwowano, że odpowiedź na pierwszą dawkę inhibitora ACE nie wiąże się z efektami długotrwałej terapii [38]. Sugeruje się także, że w odpowiedzi na leczenie inhibitorem ACE istotną rolę może odgrywać też tkankowy układ RAA. Możliwe, że tkankowy ACE ma większy wpływ na ilość powstającej lokalnie angiotensyny II, zwłaszcza że u homozygot DD obserwuje się większą dysfunkcję śródbłonna, wyrażoną nie tylko podwyższonym stężeniem czynnika von Willebranda, ale również upośledzeniem zależnej od śródbłonna wazodylatacji [27]. Przyjmuje się także, że to farmakokinetyka danego leku determinuje jego działanie, a do tej pory nie stwierdzono, aby polimorfizm pojedynczego genu z zakresu układu RAA miał wpływ na absorpcję, dystrybucję, metabolizm czy wydalanie któregoś z leków hipotensyjnych. Wręcz przeciwnie — wydaje się, że są one warunkowane wielogenowo, z udziałem czynników środowiskowych [34]. Teza ta odpowiadałaby brakowi zależności między genotypem ACE a odpowiedzią na leczenie inhibitorem ACE.

W wynikach własnych zaobserwowano również pewną rozbieżność dotyczącą redukcji ciśnienia tętniczego w przypadku homozygot II. Otóż w pomiarach tradycyjnych spadki ciśnienia tętniczego dla tego genotypu należą do najwyższych, zaś w ABPM odwrotnie — przyjmują najniższe wartości, w przypadku SBP wręcz nieistotne statystycznie. Można to tłumaczyć w ten sposób, że być może wśród homozygot II występuje największy odsetek osób z „efektem białego fartucha”, co sprawia, że w czasie początkowych wizyt w pomiarze tradycyjnym ciśnienia tętniczego uzyskuje się stosunkowo wysokie wartości, natomiast w ABPM wyjściowe ciśnienia są niższe. Ma to przełożenie na wyliczone różnice ciśnień i prowadzi do obserwowanych rozbieżności.

W uzyskanych wynikach zaobserwowano istotną redukcję PP zarówno w pomiarach tradycyjnych, jak i w ABPM po 8 tygodniach leczenia perindoprilem. Jest to pożądaný rezultat, ponieważ wysokie PP jest niezależnym czynnikiem śmiertelności z przyczyn sercowo-naczyniowych [20, 21]. Inhibitory ACE, obok leków blokujących receptor dla angiotensyny II i antagonistów wapnia, są zaliczane do leków, które mają najkorzystniejszy wpływ na zmniejszenie PP [39]. Dzieje się tak za sprawą wpływu inhibitora ACE

na zmiany zachodzące w ścianach tętnic. Duże PP jest bowiem najczęściej efektem sztywności tętnic [22]. Zaś wszelkie mechanizmy prowadzące do odwrócenia tych zmian będą jednocześnie powodowały redukcję PP. Interesujący wydaje się związek obniżenia PP pod wpływem leczenia inhibitorem ACE z polimorfizmem genu ACE. Otóż największą redukcję PP w pomiarach tradycyjnych, istotnie statystycznie wyższą niż w pozostałych dwóch podgrupach, uzyskano dla homozygot DD. W ABPM wielkość redukcji PP po 8 tygodniach leczenia inhibitorem ACE jest także istotnie statystycznie większa dla genotypu DD w porównaniu z genotypem II. Jak opisano już wcześniej genotyp DD predysponuje do częstszego występowania powikłań nadciśnienia tętniczego, choroby wieńcowej czy kardiomiopatii [13–17]. Stąd wykazanie, że leczenie inhibitorem ACE pacjentów z tym genotypem pozwala wyeliminować jeden z czynników ryzyka sercowo-naczyniowego jest bardzo istotnym rezultatem.

Poruszane w niniejszej pracy zagadnienia przedstawiono w ujęciu genetycznym. Genetyka jest coraz powszechniej stosowanym narzędziem w diagnostyce, a także terapii. Okazuje się jednak, że niekiedy badania dotyczące pojedynczego polimorfizmu jednego genu mogą nie przynieść satysfakcjonujących odpowiedzi. Sytuacja ta dotyczy również polimorfizmu insercyjno-delecyjnego genu ACE. Dowodzą tego niektóre z badań różnych autorów przytoczonych w niniejszej pracy, a przynoszące nieraz całkowicie sprzeczne wyniki. Dlatego obecnie uważa się, iż należy liczyć się z tym, że poszukiwane przez badaczy zależności są warunkowane przez wiele genów i dopiero odpowiednia ich konfiguracja daje określony efekt. Stąd coraz częściej bada się wpływ polimorfizmów kilku genów czy to na wystąpienie określonych zaburzeń, czy odpowiedź na terapię, sprawdzając różne ich kombinacje. Podobnie każdy z genów kandydujących może mieć kilka polimorfizmów. Dotyczy to także genu ACE. Tym najbardziej znanym jest polimorfizm insercyjno-delecyjny, ale opisuje się też inne: G2350A, C4656T czy G7831A [40–42]. Zhu i wsp. w swej pracy wymienia ich aż trzynaście [43]. I tak samo jak w przypadku różnych genów — być może należy brać pod uwagę, że o rozwoju pewnych nieprawidłowości czy efektach terapeutycznych decyduje współwystępowanie określonych alleli z zakresu różnych polimorfizmów.

Ustalenie powiązań genów kandydujących bądź ich konkretnych polimorfizmów z wystąpieniem nadciśnienia tętniczego, jego powikłań, stanów będących czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego czy wreszcie odpowiedzi na terapię — pozwoliłoby

w przyszłości na zaplanowanie określonej, indywidualnej strategii postępowania dla danego pacjenta na podstawie oznaczenia jego genotypu.

Wnioski

1. Polimorfizm insercyjno-delecyjny genu ACE nie jest związany z odpowiedzią hipotensyjną na leczenie inhibitorem ACE u pacjentów z łagodnym i umiarkowanym pierwotnym nadciśnieniem tętniczym.

2. Pod wpływem leczenia inhibitorem ACE pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym łagodnym i umiarkowanym dochodzi do istotnego zmniejszenia PP. Redukcja ta jest istotnie statystycznie wyższa w podgrupie DD w porównaniu z podgrupami II i ID.

Streszczenie

Wstęp W ostatnich latach, mimo coraz większej liczby prac poświęconych genetycznym aspektom nadciśnienia tętniczego, a w szczególności znaczeniu polimorfizmu insercyjno-delecyjnego genu ACE, wiele wyników badań jest kontrowersyjnych i liczne zagadnienia pozostają nierozstrzygnięte. Między innymi dyskutowana jest rola tego polimorfizmu w odpowiedzi hipotensyjnej na leki obniżające ciśnienie tętnicze oraz jego wpływ na wystąpienie powikłań sercowo-naczyniowych.

Celem pracy było poszukiwanie zależności między insercyjno-delecyjnym polimorfizmem genu ACE a odpowiedzią hipotensyjną i redukcją ciśnienia tętna po leczeniu inhibitorem ACE pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym łagodnym i umiarkowanym.

Materiał i metody Badanie objęło 64 chorych (41 mężczyzn, 23 kobiety) z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym łagodnym i umiarkowanym, bez przebytego zawału serca, udaru mózgu, niewydolności krążenia, niewydolności nerek. Średni wiek badanych wynosił $40,48 \pm 16,39$ roku. Przed rozpoczęciem leczenia pobrano próbki krwi do badań laboratoryjnych oraz analizy genetycznej (reakcja łańcuchowa polimerazy). Następnie zaczęto podawać perindopril w dawce 4 mg na dobę. Po miesiącu u chorych z niezadowolającą kontrolą ciśnienia zwiększono dawkę leku do 8 mg na dobę. Przed rozpoczęciem leczenia — po 4 tygodniach oraz po 8 tygodniach podawania perindoprilu dokonywano pomiaru ciśnienia tętniczego metodą tradycyjną oraz ABPM.

Wyniki Uzyskano następujący rozkład genotypów: II $n = 17$ (27%), ID $n = 29$ (45%), DD $n = 18$ (28%). Nie stwierdzono istotnych różnic między genotypami w redukcji ciśnienia tętniczego po leczeniu perindoprilem zarówno w pomiarach metodą tradycyjną, jak i ABPM. Wielkość redukcji PP w pomiarze tradycyjnym i w ABPM po 8 tygodniach leczenia inhibitorem ACE była istotnie statystycznie większa (odpowiednio $p = 0,027$ i $p = 0,036$) dla genotypu DD.

Wnioski Polimorfizm insercyjno-delecyjny genu ACE nie jest związany z odpowiedzią hipotensyjną na leczenie inhibitorem ACE u pacjentów z łagodnym i umiarkowanym pierwotnym nadciśnieniem tętniczym. Pod wpływem leczenia inhibitorem ACE pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym łagodnym i umiarkowanym dochodzi do istotnego zmniejszenia ciśnienia tętna. Redukcja ta jest istotnie statystycznie wyższa w podgrupie DD w porównaniu z podgrupami II i ID.

słowa kluczowe: nadciśnienie tętnicze, polimorfizm insercyjno-delecyjny, gen ACE, terapia hipotensyjna *Nadciśnienie Tętnicze 2007, tom 11, nr 5, strony 384–394.*

Piśmiennictwo

- Annest J.L., Sing C.F., Biron P. i wsp. Familial aggregation of blood pressure and weight in adoptive families. *Am. J. Epidemiol.* 1979; 110: 479–491.
- Ciechanowicz A. Wprowadzenie do genetyki molekularnej nadciśnienia tętniczego. *Pol. Arch. Med. Wew.* 2001; 105 (2): 103–108.
- Gimenez-Roqueplo A.P., Jeunemaitre X. Genetics and essential hypertension: candidate genes or screening of the whole genome? *Arch. Mal. Coeur Vaiss* 2003; 96 (11): 1089–1095.
- Soubrier P., Alhenc-Gelas F., Hubert C. Two putative active centers in human angiotensin-I converting enzyme revealed by molecular cloning. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1988; 85: 9386–9390.
- Erdos E.G. The angiotensin I converting enzyme. *Fed. Proc.* 1977; 36 (5): 1760–1765.
- Mattei M.G., Hubert C., Alhenc-Gelas F. i wsp. Angiotensin-I converting enzyme gene is on chromosome 17. *Cytogenet. Cell. Genet.* 1989; 51: 1041.
- Rigat B., Hubert C., Alhenc-Gelas F. i wsp. An insertion-deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J. Clin. Invest.* 1990; 86 (4): 1343–1346.
- Zee R.Y.L., Lou Y.K., Lyn R. i wsp. Association of a polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene with essential hypertension. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1992; 184: 9–15.
- Stolarczyk D., Chmara E., Mrozikiewicz P.M. i wsp. Polimorfizm genu ACE w wybranej populacji Wielkopolski. *Post. Farmakoter.* 2000; 4: 26–27.
- Harrap S.B., Davidson H.R., Connor J.M. i wsp. The angiotensin I converting enzyme gene and predisposition to high blood pressure. *Hypertension* 1993; 21: 455–460.
- Malik F.S., Lavie C.J., Mehra M.R. i wsp. Renin-angiotensin system: Genes to bedside. *Am. Heart J.* 1997; 134: 514–526.
- Matsubara M., Suzuki M., Fujiwara T. i wsp. Angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism and hypertension: the Ohasama study. *J. Hypertens.* 2002; 20: 1121–1126.
- Schunkert H., Hense H.W., Holmer S.R. i wsp. Association between a deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and left ventricular hypertrophy. *N. Engl. J. Med.* 1994; 330: 1634–1638.
- Iwai N., Ohmichi N., Nakamura Y. i wsp. DD genotype of the angiotensin-converting enzyme gene is a risk factor for left ventricular hypertrophy. *Circulation* 1994; 90: 2622–2628.
- Lindpaintner K., Pfeiffer M.A., Kreutz R. i wsp. A prospective evaluation of an angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and the risk of ischaemic heart disease. *N. Engl. J. Med.* 1995; 332: 706–711.
- Cambien F., Poirier O., Lecerf L. i wsp. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992; 359: 641–644.
- Raynolds M.V., Bristow M.R., Bush E.V. i wsp. Angiotensin-converting enzyme DD genotype in patients with ischaemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet* 1993; 342: 1073–1075.
- Hollenberg N.K. One's grandparents as the determinant of effective antihypertensive therapy. *Blood Press. Monit.* 1999; 4 (supl. 1): 15–18.
- Navis G., van der Kleij F.G.H., de Zeeuw D. i wsp. Angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism and renal disease. *J. Mol. Med.* 1999; 77: 781–791.
- Verdecchia P., Schillaci G., Borgioni C. i wsp. Ambulatory pulse pressure: a potent predictor of total cardiovascular risk in hypertension. *Hypertension* 1998; 32 (6): 983–988.
- Vaccarino V., Holford T.R., Krumholz H.M. Pulse pressure and risk for myocardial infarction and heart failure in the elderly. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000; 36 (1): 130–138.
- Franklin S.S. Pulse pressure as a risk factor. *Clin. Exp. Hypertens.* 2004; 26 (7–8): 645–652.
- Cifkova R., Erdine S., Fagard R., Farsang C., Heagerty A.M., Kiowski W., Kjeldsen S., Luscher T., Mallion J.M., Mancia G., Poulter N., Rahn K.H., Rodicio J.L., Ruilope L.M., van Zwieten P., Waerber B., Williams B., Zanchetti A. ESH/ESC Hypertension Guidelines Committee: Practice guidelines for primary care physicians: 2003 ESH/ESC hypertension guidelines. *J. Hypertens.* 2003; 21 (10): 1779–1786.
- O'Brien E., Asmar R., Beilin L., Imai Y., Mallion J.M., Mancia G., Mengden T., Myers M., Padfield P., Palatini P., Parati G., Pickering T., Redon J., Staessen J., Stergiou G., Verdecchia P.; European Society of Hypertension Working Group on Blood Pressure Monitoring; European Society of Hypertension recommendations for conventional, ambulatory and home blood pressure measurement. *J. Hypertens.* 2003; 21 (5): 821–848.
- Lahiri D.K., Bye S., Nurnberger J.I. Jr i wsp. A non-organic and non-enzymatic extraction method gives higher yields of genomic DNA from whole-blood samples than nine other methods tested. *J. Biochem. Biophys. Methods.* 1992; 25 (4): 193–205.
- Straburzyńska-Migaj E., Ochotny R., Chmara E. i wsp. Polimorfizm genu konwertazy angiotensyny u chorych z niewydolnością serca. *Folia Cardiol.* 2005; 12: 103–110.
- Stavroulakis G.A., Makris T.K., Krespi P.G. i wsp. Predicting response to chronic antihypertensive treatment with fosino-

- pril: the role of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism. *Cardiovascular Drugs and Therapy* 2000; 14: 427–432.
28. Li X., Du Y., Du Y. i wsp. Correlation of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism with effect of antihypertensive therapy by angiotensin-converting enzyme inhibitor. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* 2003; 8 (1): 25–30.
29. Ueda S., Meredith P.A., Morton J.J. i wsp. ACE (I/D) genotype as a predictor of the magnitude and duration of the response to an ACE inhibitor drug (enalaprilat) in humans. *Circulation* 1998; 98: 2148–2153.
30. Ohmichi N., Iwai N., Uchida Y. i wsp. Relationship between the response to the angiotensin-converting enzyme inhibitor imidapril and the angiotensin-converting enzyme genotype. *Am. J. Hypertens.* 1997; 10: 951–955.
31. Dudley Ch., Keavney B., Casadei B. i wsp. Prediction of patient response to antihypertensive drugs using genetic polymorphism: investigation of renin-angiotensin system genes. *J. Hypertens.* 1996; 14 (2): 259–262.
32. Hingorani A.D., Jia H., Stevens P.A. i wsp. Renin-angiotensin system gene polymorphisms influence blood pressure and the response to angiotensin converting enzyme inhibition. *J. Hypertens.* 1995; 13: 1602–1609.
33. Nakano Y., Oshima T., Watanabe M. i wsp. Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism and acute response to captopril in essential hypertension. *Am. J. Hypertens.* 1997; 10 (9): 1064–1068.
34. Yu H., Zhang Y., Liu G. Relationship between polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and the response to angiotensin-converting enzyme inhibition in hypertensive patients. *Hypertens. Res.* 2003; 26: 881–886.
35. Harrap S.B., Tzourio C., Cambien F., Poirier O., Raoux S., Chalmers J., Chapman N., Colman S., Leguennec S., MacMahon S., Neal B., Ohkubo T., Woodward M. for the PROGRESS Collaborative Group: The ACE gene I/D polymorphism is not associated with the blood pressure and cardiovascular benefits of ACE inhibition. *Hypertension* 2003; 42: 297–303.
36. Arnett D.K., Davis B.R., Ford C.E. i wsp. Pharmacogenetic association of the angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism on blood pressure and cardiovascular risk in relation to antihypertensive treatment. The Genetics of Hypertension-Associated Treatment (GenHAT) Study. *Circulation* 2005; 111: 3374–3383.
37. Mellen P.B., Herrington D.M. Pharmacogenomics of blood pressure response to antihypertensive treatment. *J. Hypertens.* 2005; 23: 1311–1325.
38. Bidiville J., Nussberger J., Waeber G. i wsp. Individual responses to ACE inhibitors and calcium antagonists. *Hypertension* 1988; 11: 166–173.
39. Scholze J. Pulse pressure in the therapeutic management of hypertension? *Herz* 2004; 29 (3): 276–289.
40. Villard E., Tiret L., Visvikis S. i wsp. Identification of new polymorphisms of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene, and study of their relationship to plasma ACE levels by two-QTL segregation-linkage analysis. *Am. J. Hum. Genet.* 1996; 58 (6): 1268–1278.
41. Brazhnik V.A., Gorashko N.M., Minushkina L.O. i wsp. Polymorphic markers I/D and G7831A of angiotensin-I-converting enzyme gene and left ventricular hypertrophy in patients with essential hypertension. *Kardiologija* 2003; 43 (2): 44–49.
42. Saeed Mahmood M., Saboohi K., Osman Ali S. i wsp. Association of the angiotensin-converting enzyme (ACE) gene G2350A dimorphism with essential hypertension. *J. Hum. Hypertens.* 2003; 17 (10): 719–723.
43. Zhu X., Bouzekri N., Southam L. i wsp. Linkage and association analysis of angiotensin I-converting enzyme (ACE)-gene polymorphisms with ACE concentration and blood pressure. *Am. J. Hum. Genet.* 2001; 68 (5): 1139–1148.