

Apoptoza a nadciśnienie tętnicze — aktualny stan wiedzy i perspektywy

Apoptosis and Arterial Hypertension — Current Knowledge and Perspectives

Summary

In the last few years apoptosis has become one of the most extensively studied topics in molecular biology. It is considered as programmed cell death process and several intrinsic and extrinsic factors emerge as potential candidates to trigger apoptosis. It has been demonstrated in various models of experimental hypertension that apoptosis occurs in cardiovascular system, being involved in heart and vessel wall hypertrophy/hyperplasia or remodelling. However the role of this process is still not fully understood.

key words: apoptosis, hypertension, cardiovascular system
Arterial Hypertension 2000, vol. 4, no 2, pages 131–137.

Nadciśnienie tętnicze jest jednym z głównych czynników ryzyka rozwoju zmian w układzie sercowo-naczyniowym. Powoduje przerost i przebudowę serca i ściany naczyń, upośledza funkcję śródbłonna i przyspiesza rozwój miażdżycy. Wyraźnie zwiększa ryzyko zawału serca, udaru mózgu i niewydolności serca.

W ciągu ostatnich lat nastąpił bardzo intensywny rozwój badań nad mechanizmami przyczyniającymi się do powstawania zmian w układzie sercowo-naczyniowym, które towarzyszą nadciśnieniu tętniczemu. O postępie w tej dziedzinie zdecydowało wprowadzenie metod biologii molekularnej i badań genetycznych, które umożliwiły prześledzenie zmian zachodzących na poziomie komórkowym. Uważa się, że zmiany dokonujące się w obrębie serca i ściany naczyń są następstwem współdziałania czynni-

ków genetycznych, hemodynamicznych i humoralno-metabolicznych. Rosnące znaczenie w rozwoju zmian w układzie sercowo-naczyniowym w przebiegu nadciśnienia tętniczego przypisuje się zjawisku apoptozy [1–3].

Apoptoza (z greckiego: „opadanie płatków”), czyli programowana lub — jak nazywają niektórzy — samobójcza śmierć komórki, stała się jednym z kluczowych problemów biologii molekularnej i biologii komórki [4–8]. Każdy organizm wielokomórkowy zawiera zarówno komórki w pełni zróżnicowane — na przykład komórki układu nerwowego czy mięśnia sercowego — jak i komórki, które nie przestają ulegać podziałom do końca życia organizmu — na przykład komórki szpiku kostnego i nabłonka. Istnieją również komórki, o których sądzi się, że wyczerpują swój potencjał proliferacyjny, typu fibroblasty i limfocyty. Homeostaza organizmu zależy więc od równowagi pomiędzy procesami podziału i śmierci komórek [9, 10]. Zachwianie tej równowagi w stanach patologicznych może prowadzić do nadmiernej umieralności komórek, tak jak to odbywa się w wypadku limfocytów T u nosicieli wirusa HIV-1, lub w wypadku przerostu tkanki obserwowanego w chorobach nowotworowych. Istnieje wiele podobieństw pomiędzy podziałem komórek (mitozą) a fizjologiczną śmiercią (apoptozą). Podziały komórkowe, zachodzące pod wpływem mitogenów, wywołują wiele genetycznych i biochemicznych procesów prowadzących do podwojenia DNA, podziału jądra komórkowego i powstania dwóch siostrzanych komórek. Wydaje się, że zarówno bodźce mitogenne, jak i stymulujące apoptozę, powodują w komórce zmiany, które do pewnego etapu są wspólne dla obu procesów: podziału i śmierci. Niektórzy śmierć komórki określają nawet mianem poronnej mitozy. Spotykamy się także z poglądem, że śmierć komórki następuje w wyniku konfliktu sygnałów wywołujących jednocześnie podziały i zatrzymanie cyklu komórkowego [9].

Adres do korespondencji:
doc. dr hab. Dariusz Sitkiewicz
Zakład Biochemii Klinicznej
Instytut Kardiologii w Warszawie
ul. Alpejska 42, 04–628 Warszawa
tel./faks: (022) 815–34–13

Apoptoza jest aktywnym procesem metabolicznym poprzedzonym przez wiele sygnałów pochodzących z innych komórek (lub środowiska), który w konsekwencji prowadzi do usunięcia z organizmu komórek zbytecznych, szkodliwych lub zmutowanych. Apoptoza bardzo często dotyczy pojedynczych komórek i w odróżnieniu od nekrozy nie wywołuje stanu zapalnego, gdyż komórka rozpada się na tak zwane ciała apoptyczne, które są natychmiast fagocytowane przez makrofagi lub sąsiadujące komórki. Apoptoza trwa od kilku godzin do kilku dni i może ją wywoływać bardzo wiele czynników zewnętrznych. Są to przede wszystkim czynniki uszkadzające DNA i zaburzające cykl komórkowy, brak czynników wzrostowych, szok termiczny, stres oksydacyjny oraz aktywacja określonych receptorów błonowych z nadrodziny receptorów TNF (*tumour necrosis factor*) — głównie receptorów FAS i TNF-R1 [3, 11]. Receptory te są białkami transbłonowymi, które zawierają w swych cytoplazmatycznych fragmentach specyficzną sekwencję aminokwasową, składającą się z 80–90 aminokwasów, zwaną „domeną śmierci” (DD — *death domain*). Ze względu na występowanie DD w różnych białkach, takich jak białka receptorowe, enzymy, białka adaptorowe oraz białka strukturalne, można przypuszczać, że przekazuje ona nie tylko sygnały do śmierci komórek, lecz pełni także inne funkcje ogólne wskutek reakcji z różnymi białkami [12].

Receptor FAS występuje przede wszystkim na powierzchni komórek układu immunologicznego (limfocyty T i B) oraz limfoidalnych komórek nowotworowych. Jego obecność wykryto także w komórkach wątroby, nerek serca i w wielu innych tkankach [13]. Receptory TNF-R1 i TNF-R2 występują również powszechnie, jak receptory FAS. Po związaniu specyficznego liganda, którym są cytokiny, białka receptorowe zakotwiczone N-końcem w błonie komórkowej, ulegają oligomeryzacji, tworząc agregaty, które są następnie internalizowane do cytoplazmy, uruchamiając proces apoptozy. W cytosolu znajduje się wiele białek adaptorowych, uczestniczących w przekazywaniu sygnału proapoptycznego z receptorów błonowych do białek efektorowych, które są proteazami cysteinowymi, zwanymi kaspazami (*caspase, cysteine-aspartate-specific proteinase*). Enzymom tym (wykrytym po raz pierwszy w komórkach nicienia *Caenorhabditis elegans*) przypisuje się podstawową rolę w przebiegu efektorowej, nieodwracalnej fazy apoptozy [12, 13]. Wszystkie poznane dotychczas kaspazy (jest ich ponad 10) są syntetyzowane jako nieaktywne proenzymy. Prodomena, która uczestniczy w utrzymaniu kaspaz w ich formie nieaktywnej, zostaje odszczepiona podczas aktywacji. Aktywną enzymatycznie formą kaspaz jest tetramer $(p20)_2(p10)_2$, powstały

w wyniku autoproteolizy enzymu lub działania kaskady kaspaz czy innych proteaz. Substratami kaspaz mogą być zarówno białka cytosolowe, jak i jądrowe, a ich proteoliza może powodować hamowanie funkcji pełnionych przez nie w komórce. Mechanizm katalizowanej przez kaspazy proteolizy w warunkach fizjologicznych nie został jeszcze szczegółowo poznany. Wydaje się jednak, że podczas apoptozy ulegają proteolizie takie białka jak: aminy jądrowe, histony, polimeraza poli-ADP-rybozy, niektóre białka strukturalne oraz wiele białek decydujących o efektywności reperacji DNA i obróbki RNA, a także o prawidłowym przebiegu cyklu komórkowego i przekazywaniu sygnałów [12, 14]. Efektywność transmisji sygnału proapoptycznego, wytwarzanego przy błonie komórkowej, zależy prawdopodobnie od:

- liczby receptorów błonowych i ich właściwości,
- liczby ligandów (induktorów apoptozy) i ich zdolności do reakcji z receptorem,
- obecności endogennych białek hamujących aktywność kaspaz,
- działania egzogennych inhibitorów kaspaz, przede wszystkim białek wirusowych,
- stanu oksydoredukcyjnego komórki oraz wewnątrzkomórkowego poziomu ATP i możliwości uwalniania cytochromu c z mitochondriów.

Jedną z charakterystycznych zmian strukturalnych, które zachodzą w komórce podlegającej apoptozie, jest fragmentacja DNA, dająca podczas rozdzielania elektroforetycznego wyizolowanego DNA obraz mono- i oligonukleosomów. Dopiero w 1997 roku udało się wyizolować białko o aktywności nukleazowej, które po wprowadzeniu do jąder wywoływało degradację DNA [7]. Białko to, nazwane DFF (*DNA — Fragmentation Factor*), jest heterodimerem, składającym się z podjednostek o masach 40 i 45 kDa. Podjednostka DFF45 zawiera dwa miejsca rozpoznawane przez kaspazę-3, a jej proteoliza jest niezbędna do aktywacji nukleazy. Białko DFF jest niezależną od wapnia endonukleazą, która preferencyjnie przecina DNA pomiędzy nukleosomami (DNA łącznikowy) [15].

Różnorodność czynników wywołujących apoptozę skłania do zastanowienia, czy wszystkich ich nie łączy wspólny mechanizm działania. Wiele danych doświadczalnych wydaje się wskazywać, że wszystkie czynniki proapoptyczne wywołują w komórkach stres oksydacyjny, wzmagając wytwarzanie reaktywnych form tlenu lub upośledzając przeciwutleniające mechanizmy obronne [16, 14]. Rolę reaktywnych form tlenu w apoptozie potwierdzają badania wykazujące antyoksydacyjne właściwości produktów dwóch homologicznych genów *Bcl-2* i *Bcl-xl*. Ekspresja tych genów zapobiega apoptozie komórek ssaków poprzez wzmocnienie syntezy glutationu, co prowadzi

do podwyższenia ogólnego potencjału redukcyjnego w komórce. Jednocześnie stwierdzono, że białko Bcl-2 (produkt genu *Bcl-2*) posiada właściwość neutralizowania RFT, prowadząc do opóźnienia śmierci komórki. Dodatkowym argumentem potwierdzającym udział RFT w procesie apoptozy jest ich zdolność do indukcji podwójnych pęknięć DNA, w wyniku których powstają duże fragmenty DNA, zawierające 1–2 mln par zasad. Zjawisko to poprzedza dalszą fragmentację DNA i być może jest czynnikiem wywołującym apoptozę. Stwierdzono także, że nadtlenek wodoru (H_2O_2), zależnie od stężenia, może stymulować lub hamować aktywność kaspaz. Aktywacja kaspaz przez niskie stężenia H_2O_2 mogłaby bezpośrednio indukować apoptozę.

Wiele przesłanek wskazuje na kluczową rolę mitochondriów w przebiegu procesu apoptozy [17, 18]. Okazało się, że czynniki wywołujące apoptozę powodują niespecyficzne otwarcie megakanalu mitochondrialnego („nadprzepuszczalność” błon mitochondrialnych). Otwarcie megakanalu i związane z nim obniżenie potencjału błonowego oraz wypływ Ca^{++} z mitochondriów poprzedzają inne zmiany charakterystyczne dla apoptozy. Efektem zjawiska „nadprzepuszczalności” błon mitochondrialnych jest wtórne tworzenie dużych ilości RFT oraz uwalnianie cytochromu c, który — jak udowodniono — bierze udział w aktywacji jednej z proteaz z rodziny kaspaz [18] (ryc. 1).

Jak już wspomniano, ważną rolę w rozwoju zmian w układzie sercowo-naczyniowym w przebiegu nadciśnienia tętniczego odgrywa zjawisko apoptozy. Wskazują na to wyniki badań prowadzonych na różnych modelach nadciśnienia doświadczalnego. Mimo że nie dostarczyły one jednolitych wyników, zaprezentowały nowe aspekty procesów związanych z przebudową serca i naczyń, towarzyszące nadciśnieniu tętniczemu [19–28].

Wielu autorów wykazało zwiększoną apoptozę w obrębie lewej komory serca u szczurów z genetycznie uwarunkowanym nadciśnieniem tętniczym (SHR — *spontaneous hypertension rats*). Wyniki ich badań dotyczyły osobników zarówno młodych, jak i dorosłych oraz w starszym wieku.

Trzeba podkreślić, że nasiloną apoptozą była stwierdzona głównie w obrębie wykazującego cechy przerostu mięśnia lewej komory.

Fortuno i wsp. obserwowali u szczurów SHR wzmożoną ekspresję protoonkogenu *Bax* o właściwościach proapoptycznych w obrębie lewej komory, przy czym ekspresja protoonkogenu *Bd-2* o właściwościach przeciwnych do zaprogramowanej śmierci komórki nie różniła się od ekspresji u szczurów z ciśnieniem tętniczym prawidłowym (WKY — *Wistar Kyoto*)

[29]. Wskazuje to na zwiększoną podatność miocytów szczurów SHR na bodźce proapoptyczne.

Mechanizm wzmożonej apoptozy w sercu u szczurów SHR nie jest w pełni wyjaśniony. Przypuszcza się, że jednym z czynników, który może wywoływać apoptozę, jest wzmożona aktywność układu renina-angiotensyna [11, 30, 31]. Potwierdzają to wyniki badań, które wykazały, że aktywność enzymu przekształcającego angiotensynę I do angiotensyny II jest podwyższona w obrębie miocytów wykazujących cechy apoptozy. Podanie kaptoprylu — inhibitora enzymu przekształcającego — hamowało apoptozę u tych zwierząt [20–22]. Stwierdzono także, że losartan (antagonista receptora angiotensyny AT_1) powodował normalizację wzmożonej apoptozy [29].

Trzeba dodać, że brak wzrostu *Bd-2* u szczurów SHR ze wzmożoną apoptozą może świadczyć, że procesowi temu nie towarzyszy wzrost protoonkogenu *Bd-2*, który z racji swoich właściwości mógłby przeciwdziałać nasilonej, zaprogramowanej genetycznie śmierci komórki.

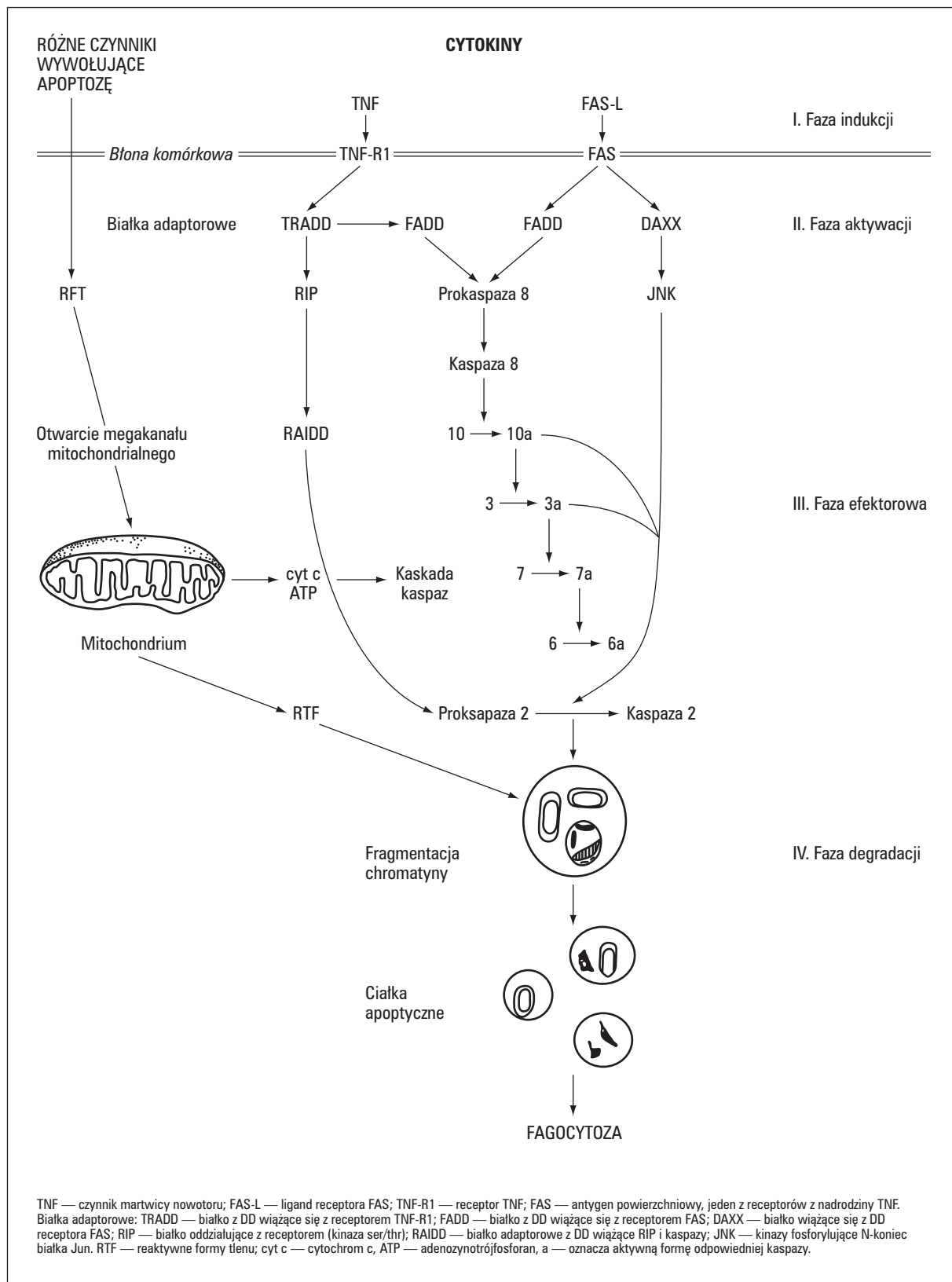
Godne uwagi są obserwacje, które wykazały, że wzmożona apoptoza występuje u szczurów SHR, u których stwierdzono objawy niewydolności serca — w odróżnieniu od osobników z zachowaną jego wydolnością.

Zwiększona apoptoza, prowadząca do utraty żywotnych kardiomiocytów, może być jednym z czynników odpowiedzialnych za rozwój niewydolności serca w tym modelu nadciśnienia doświadczalnego.

Uważa się, że również u ludzi nasiloną apoptozą w obrębie miocytów serca może przyczyniać się do powstania niewydolności serca.

W ostatnich latach pojawiło się w piśmiennictwie wiele prac dotyczących apoptozy w komórkach mięśni gładkich naczyń u szczurów z doświadczalnym nadciśnieniem [20, 23, 32]. Sharifi i Schiffrin jako jedni z pierwszych wykazali zwiększoną apoptozę w ścianie aorty u szczurów SHR w porównaniu z apoptozą u szczurów z prawidłowym ciśnieniem tętniczym WKY [32].

Podanie enalaprylu (inhibitora konwertazy) i amlodypiny (antagonisty wapnia) powodowało wyraźne nasilenie apoptozy. Świadczyła o tym zwiększona ekspresja protoonkogenu *Bax* w komórkach mięśni gładkich aorty, przy czym stosunek *Bax/Bd-2* podwyższył się. U szczurów SHR, które nie otrzymywały leków hipotensyjnych, stwierdzano wyższy poziom *Bd-2* w porównaniu z *Bax*, co mogło wskazywać na wzmożoną proliferację komórek mięśni gładkich ściany naczynia. Autorzy postulują, że zwiększona apoptoza w ścianie aorty może być procesem kompensacyjnym, przeciwdziałającym przebudowie ściany naczynia. Mimo zwiększonej apoptozy



Rycina 1. Szlaki metaboliczne prowadzące do apoptozy

Figure 1. Signaling pathway of apoptosis

procesy proliferacyjne przeważają nad zaprogramowaną śmiercią komórki [32].

Również wcześniejsze badania autorów kanadyjskich wykazały zwiększoną apoptozę w komórkach mięśni gładkich aorty u szczurów SHR [23, 24]. Z kolei Diez i wsp. uzyskali odmienne wyniki. Stwierdzili mianowicie zwiększoną ekspresję onkoproteiny *Bcl-2* w komórkach mięśni gładkich drobnych tętnic w obrębie serca u dojrzałych szczurów SHR [20]. Autorzy uważają, że wzmożona ekspresja *Bcl-2* w drobnych tętnicach szczurów SHR może być związana ze zmniejszoną wrażliwością na działanie bodźców powodujących śmierć komórki. Wyrażono przypuszczenie, że różnice występowania procesu apoptozy wynikają z faktu, iż wzrost komórek mięśni gładkich naczyń może być zależny od rozmaitych czynników i że populacje tych komórek mogą być zróżnicowane. Diez i wsp. w swoich doświadczeniach wykazali, że chinapryl (inhibitor enzymu przekształcającego) nasilał ekspresję onkoproteiny *Bax* w komórkach mięśni gładkich serca u szczurów SHR [20].

Mechanizmy odpowiedzialne za powstanie apoptozy u szczurów z genetycznie uwarunkowanym nadciśnieniem nie są w pełni poznane.

Wiele danych doświadczalnych i klinicznych wskazuje na ważną rolę układu renina-angiotensyna, a zwłaszcza jego składowej tkankowej, w rozwoju zmian w układzie sercowo-naczyniowym w przebiegu nadciśnienia tętniczego [33–35]. Angiotensyna II poprzez wpływ na receptory AT_1 wywiera działanie na receptory AT_2 , hamuje proliferację i wywołuje apoptozę. Zwiększona aktywność układu renina-angiotensyna wpływa na wzrost komórki, a apoptoza może być zjawiskiem wtórnym do wzmożonej proliferacji — niezależnym od angiotensyny II. Na podkreślenie zasługuje fakt, że zarówno enalapryl, china-pryl, jak i losartan wywoływały apoptozę w komórkach mięśni gładkich, czemu towarzyszyła regresja przerostu ściany naczynia.

Zahamowanie wytwarzania angiotensyny II pod wpływem inhibitora enzymu przekształcającego może sprzyjać wystąpieniu apoptozy wskutek wyeliminowania jej działania mitogennego, co sprzyja aktywacji czynników nasilających zaprogramowaną śmierć komórki.

Należy również brać pod uwagę fakt, że zahamowanie enzymu przekształcającego angiotensynę I, identycznego z kininazą, prowadzi do wzrostu jej wytwarzania, co z kolei wzmacnia produkcję prostacykliny i tlenku azotu — substancji o właściwościach proapoptycznych. W piśmiennictwie podkreśla się jednak zróżnicowany wpływ tlenku azotu na apoptozę — może on ją w pewnych warunkach wzmacniać, a w innych działać na nią hamująco [36–39].

Wiele obserwacji doświadczalnych i klinicznych wskazuje, że inhibitory enzymu przekształcającego korzystnie wpływają na przebudowę tętniczek oporowych, przyczyniając się do normalizacji ich struktury. Podobnie jak antagoniści receptorów AT_1 , powodują regresję przerostu lewej komory.

Interesujący jest także fakt, że amlodypina wywoływała apoptozę w ścianie aorty u szczurów SHR. Opinie dotyczące wpływu antagonistów wapnia na proces apoptozy są rozbieżne. Obserwowano pod ich wpływem zarówno pobudzenie, jak i zahamowanie tego zjawiska [40].

Omawiając mechanizmy mogące przyczyniać się do powstania apoptozy w układzie sercowo-naczyniowym, warto wspomnieć o znaczeniu niektórych substancji wazoaktywnych [41]. Jedną z nich jest noradrenalina (amina katecholowa). Wykazuje ona silne właściwości wazokonstrykcyjne i aktywuje zarówno procesy wzrostu, jak i apoptozę [42].

Interesujące są też wyniki badań, które wskazują na możliwość występowania apoptozy w komórkach drobnych tętniczek i kapilar serca u szczurów SHR [43]. Wysłunięto przypuszczenie, że nasilona apoptoza może przyczyniać się do zmniejszenia gęstości drobnych tętniczek — zjawiska obserwowanego w nadciśnieniu tętniczym.

Na zakończenie należy podkreślić, że dotychczasowe badania sugerują udział apoptozy w procesie przebudowy układu sercowo-naczyniowego w doświadczalnym nadciśnieniu tętniczym. Zahamowanie apoptozy w obrębie serca może być zjawiskiem korzystnym, chroniącym przed rozwojem niewydolności serca [44, 45]. Z kolei pobudzenie apoptozy w ścianie naczynia może korzystnie wpływać na przebudowę ściany naczynia, sprzyjając normalizacji jej struktury. Na razie stan wiedzy nie umożliwia w dostatecznym stopniu przeniesienia wyników badań doświadczalnych na ludzi.

Wyjaśnienie roli apoptozy w rozwoju zmian w układzie sercowo-naczyniowym w przebiegu nadciśnienia wymaga dalszych badań. Możliwość farmakologicznej ingerencji w proces apoptozy może stworzyć nowe możliwości w farmakoterapii nadciśnienia tętniczego.

Streszczenie

Apoptoza, określana inaczej programowaną śmiercią komórki, stała się jednym z kluczowych problemów biologii molekularnej. Jest ona złożonym, aktywnym procesem metabolicznym, wywołanym przez wiele sygnałów pochodzących z innych komórek lub

środowiska. Zjawisko apoptozy odgrywa ważną rolę w rozwoju zmian w układzie sercowo-naczyniowym w przebiegu nadciśnienia tętniczego, na co wskazują badania na różnych modelach doświadczalnego nadciśnienia, podkreślając jej udział w procesach przebudowy naczyń. Wyjaśnienie roli apoptozy w rozwoju zmian w układzie sercowo-naczyniowym wymaga jednak dalszych badań.

słowa kluczowe: apoptoza, nadciśnienie tętnicze, układ sercowo-naczyniowy

Nadciśnienie Tętnicze 2000, tom 4, nr 2, strony 131–137.

Piśmiennictwo

- Anversa P., Olivetti G., Levi A. i wsp.: Myocyte death and ventricular remodeling. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 1997, 6, 169–179.
- Bennet M.R., Evan G.I., Schwartz S.M.: Apoptosis of human vascular smooth muscle cell derived from normal vessels and coronary atherosclerotic plaques. *J. Clin. Invest.* 1995, 95, 2266–2274.
- Cheng W., Li B., Kajstura J. i wsp.: Stretch — induced programmed myocyte cell death. *J. Clin. Invest.* 1995, 96, 2247–2259.
- Mac Lellan W.R., Schneider M.D.: Death by design: programmed cell death in cardiovascular biology and disease. *Circ. Res.* 1997, 81, 137–144.
- Saini K.S., Walker N.I.: Biochemical and molecular mechanisms regulating apoptosis. *Mol. Cell. Biochem.* 1998, 178, 9–25.
- Thompson C.B.: Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995, 267, 1456–1462.
- Williams G.T., Smith C.A.: Molecular regulation of apoptosis: genetic controls on cell death. *Cell.* 1993, 74, 777–779.
- Yet E.T.H.: Life and death in the cardiovascular system. *Circulation* 1997, 95, 782–786.
- Sikora E.: Mechanizmy śmierci programowanej komórek (apoptozy). *Post. Biochem.* 1994, 40, 150–160.
- Sikora E.: Cykl komórkowy i apoptoza: śmierć starej komórki. *Post. Biochem.* 1996, 42, 108–113.
- Cigola E., Kajstura J., Li B. i wsp.: Angiotensin II activates programmed myocyte cell death in vitro. *Exp. Cell. Res.* 1997, 231, 363–371.
- Grzelakowska-Sztabert B.: Molekularne mechanizmy apoptozy indukowanej poprzez aktywację błonowych receptorów z nadrodziny TNF-R. *Post. Biochem.* 1998, 44, 8–21.
- Enari M., Hug H., Nagata S.: Involvement of an ICE-like protease in fas-mediated apoptosis. *Nature* 1995, 375, 78.
- Bartosz G.: Rola reaktywnych form tlenu w apoptozie. *Post. Biochem.* 1998, 44, 22–31.
- Sun X.-M., Cohem G.M.: Mg²⁺ — dependent cleavage of DNA in apoptosis. *J. Biol. Chem.* 1994, 269, 1457–1462.
- Jajte J.M.: Udział rodników tlenowych w apoptozie — znaczenie kliniczne. *Probl. Ter. Monit.* 1998, 9, 3–9.
- Widlak P.: Apoptoza: nukleaza, kaspazy, cytochrom c. *Post. Biochem.* 1998, 44, 252–254.
- Liu X., Kim C.N., Yang J. i wsp.: Induction of apoptotic program in cell-free extracts: requirement for dATP and cytochrome c. *Cell.* 1996, 86, 147–157.
- De Bois D., Tea B.S., Dam T.V. i wsp.: Smooth muscle apoptosis during vascular regression in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1997, 29, 340–349.
- Diez J., Panizo A., Hernandez M. i wsp.: Is the regulation of apoptosis altered in smooth muscle cells of adult spontaneously hypertensive rats? *Hypertension* 1997, 29, 776–780.
- Diez J., Panizo A., Hernandez M. i wsp.: Cardiomyocyte apoptosis and cardiac angiotensin-converting enzyme in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1997, 30, 1029–1034.
- Diez J., Fortuno M.A., Ravassa S.: Apoptosis in hypertensive heart disease. *Curr. Opin. Cardiol.* 1998, 13, 317–325.
- Hamet P., Richard L., Dam T.V. i wsp.: Apoptosis in target organs of hypertension. *Hypertension* 1995, 26, 242–248.
- Hamet P.: Proliferation and apoptosis of vascular smooth muscle in hypertension. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 1995, 4, 1–7.
- Hamet P., Moreau P., Dam T.V. i wsp.: The time window of apoptosis: a new component in the therapeutic strategy for cardiovascular remodelling. *J. Hypertens.* 1996, 14 (supl. 5), 565–570.
- Kirshenbaum L.A., de Moissac D.: The Bcl-2 product prevents programmed cell death of ventricular myocytes. *Circulation* 1997, 96, 1580–1585.
- Li Z., Bing O.H.L., Long X. i wsp.: Increased cardiomyocyte apoptosis during the transition to heart failure in the spontaneously hypertensive rats. *Am. J. Physiol.* 1997, 272, H 2313–H2319.
- Teiger E., Dam T.V., Richard L. i wsp.: Apoptosis in pressure overload - induced heart hypertrophy in the rat. *J. Clin. Invest.* 1996, 97, 2891–2897.
- Fortuno M.A., Ravassa S., Etayo J.C. i wsp.: Overexpression of Bax protein and enhanced apoptosis in the left ventricle of spontaneously hypertensive rats: effects of AT₁ blockade with losartan. *Hypertension* 1998, 32, 280–286.
- Kajstura J., Cigola E., Malhotra A. i wsp.: Angiotensin II induces apoptosis of adult myocytes in vitro. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1997, 29, 859–870.
- Pierzchalski R., Reiss K., Cheng W. i wsp.: p 53 induces myocyte apoptosis via activation of the renin-angiotensin system. *Exp. Cell. Res.* 1997, 234, 57–65.
- Sharifi A.M., Schiffrin E.L.: Apoptosis in vasculature of spontaneously hypertensive rats. Effect of an angiotensin converting enzyme inhibitor and calcium channel antagonist. *Am. J. Hypertens.* 1998, 11, 1108–1116.
- Francis G.S.: ACE inhibition in cardiovascular disease. *N. Engl. J. Med.* 2000, 342, 201–202.
- Januszewicz W., Sznajderman M., Szczepańska-Sadowska E.: *Nadciśnienie tętnicze*. Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa 1993.
- Januszewicz A.: *Nadciśnienie tętnicze*. Zarys patogenezy, diagnostyki i leczenia. Wydawnictwo Medycyna Praktyczna. Kraków 1997.
- Fukuo K., Hata S., Suhara T. i wsp.: Nitric oxide induces upregulation of Fas and apoptosis in vascular smooth muscle. *Hypertension* 1996, 27, 823–826.
- Hockenbery D.M., Oltvai Z.N., Yin X.M. i wsp.: Bcl-2 function in an antioxidant pathway to prevent apoptosis. *Cell.* 1993, 7, 241–251.
- Iwashina M., Shichivi M., Marumo F. i wsp.: Transfection of inducible nitric oxide synthase gene causes apoptosis in vascular smooth muscle cells. *Circulation* 1998, 98, 1212–1218.

39. Kim Y.M., Bombeck Ch.A., Billiar T.R.: Nitric oxide as a bi-functional regulator of apoptosis. *Circ. Res.* 1999, 84, 253–256.
40. Mason R.P.: Calcium channel blockers; apoptosis and cancer: is there a biologic relationship. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1999, 34, 1857–1866.
41. Pollman M.J., Yamada T., Horiuchi M. i wsp.: Vasoactive substances regulate vascular smooth muscle cell apoptosis: countervailing influences of nitric oxide and angiotensin II. *Circ. Res.* 1996, 79, 748–756.
42. Communal C., Singh K., Pimentel D.R. i wsp.: Norepinephrine stimulates apoptosis in adult rat ventricular myocytes by activation of the β -adrenergic pathway. *Circulation* 1998, 98, 1329–1334.
43. Vega F., Panizo A., Pardo-Mindan J. i wsp.: Insensitivity to apoptosis measured by MYC, BCL-2 and BAX expression in arterioles and capillaries of adult spontaneously hypertensive rats. *Am. J. Hypertens.* 1999, 12, 815–820.
44. Narula J., Haider N., Virmani R. i wsp.: Apoptosis in myocyte end-stage heart failure. *N. Engl. J. Med.* 1996, 335, 1182–1189.
45. Olivetti G., Abbi R., Quaini F. i wsp.: Apoptosis in the failing human heart. *N. Engl. J. Med.* 1997, 336, 1131–1141.

