

Współwystępowanie wariantów polimorficznych I/D genu ACE i A1166C genu receptora AT1 angiotensyny II a ciśnienie tętnicze u mężczyzn bez jawnych klinicznie schorzeń miażdżycopochodnych

Association of the I/D polymorphism of ACE and A1166C polymorphism of the angiotensin II AT1 receptor gene and blood pressure in men without clinical manifestations of atherosclerotic diseases

Summary

Background Genetic and environmental factors influence the development of arterial hypertension. Increased activity of the renin-angiotensin-aldosterone system can facilitate development of arteriosclerosis and may play a role in pathophysiology of arterial hypertension. We investigated the interaction between ACE gene I/D polymorphism and AT1 receptor gene A1166C polymorphism on the risk of arterial hypertension.

Material and methods We examined 539 men, mean age 44 ± 9 years, who did not have any symptoms of coronary artery disease, stroke or other atherosclerotic diseases. We measured blood pressure, weight, height, waist and hip circumference, fasting serum glucose and lipids levels. In each subject resting ECG was recorded. The polymerase chain reaction, RFLP procedure and agarose gel electrophoresis were used to determine the ACE I/D

genotype and the angiotensin II AT1 receptor A1166C genotype.

Results The odds ratio for arterial hypertension associated with the AT1R AC+CC genotype was 0.59 (95% CI 0.28–1.26) for men without the ACE I allele $p = 0.36$ and 1.26 (95% CI 0.76–2.07) in ID heterozygotes, $p = 0.36$ and 0.76 (95% CI 0.36–1.61) in II homozygotes, $p = 0.61$. The association was also not significant after adjustment for other significant common atherosclerotic risk factors.

Conclusions We did not find any significant interaction between ACE and AT1R gene polymorphisms in men with and without arterial hypertension.

Key words: I/D ACE gene polymorphism, angiotensin II AT1 receptor gene polymorphism, arterial hypertension, risk factors of atherosclerosis

Arterial Hypertension 2000, vol. 4, no 4, pages 261–268.

Adres do korespondencji: lek. med. Jerzy Bellwon
I Klinika Chorób Serca Instytutu Kardiologii AM w Gdańsku
ul. Dębinki 7, 80–210 Gdańsk

 Copyright © 2000 Via Medica, ISSN 1428–5851

Wstęp

Rezultaty wielkich badań populacyjnych wskazują na wieloczynnikową naturę chorób sercowo-naczyniowych, w tym nadciśnienia tętniczego i jego powikłań. Nadciśnienie tętnicze jest jednym z głównych czynników ryzyka rozwoju schorzeń miażdżycopochodnych, a szczególnie zawału serca i udaru mózgu. Identyfikacja zwiększonego ryzyka umożliwia

zmniejszenie niekorzystnych następstw tych chorób poprzez wpływ na możliwe do zmodyfikowania czynniki ryzyka oraz podjęcie odpowiednich działań terapeutycznych na podstawie oceny stopnia ogólnego ryzyka danego chorego [1, 2].

Wiadomo od dawna, że dla ujawnienia się wielu chorób układu sercowo-naczyniowego konieczny jest nie tylko niekorzystny wpływ na organizm człowieka określonych czynników środowiskowych, ale również jego wrodzona podatność, którą dzisiaj określamy mianem podłoża genetycznego. Dobrze udokumentowany jest fakt, iż u osób, u których w najbliższej rodzinie stwierdzono chorobę wieńcową lub naciśnienie tętnicze, prawdopodobieństwo wystąpienia tych chorób jest znamienne wyższe [3, 4]. Dotychczas do oceny udziału czynników genetycznych w patogenezie powszechnych chorób układu sercowo-naczyniowego służyły badania bliźniąt jedno- i dwujajowych oraz badania rodzinnego występowania danej patologii. Rozwój metod biologii molekularnej w ostatnich dekadach przyczynił się do lepszego poznania struktury i funkcji poszczególnych genów, mających potencjalny udział w rozwoju chorób układu krążenia [5, 6].

Szczególną rolę w patogenezie wielu schorzeń układu sercowo-naczyniowego przypisuje się układowi renina-angiotensyna-aldosteron (RAA). Zasadniczym elementem tego układu jest enzym konwertujący angiotensynę I (ACE — *angiotensin-converting enzyme*), odpowiedzialny głównie za powstawanie aktywnego oktapeptydu — angiotensyny II oraz za degradację bradykininy. Istnieje wiele przesłanek wskazujących, iż angiotensyna II wywiera działanie promiażdżycowe oraz wpływa na rozwój naciśnienia tętniczego i jego powikłań. Działa ona antynatriuretycznie, wazokonstrykcyjnie, aktywuje układ adrenergiczny, uszkadza bezpośrednio komórki śródbłonna, prowadzi do proliferacji i migracji komórek mięśni gładkich naczyń oraz aktywacji monocytów/makrofagów. Ponadto angiotensyna II sprzyja agregacji i adhezji płytek krwi oraz niekorzystnie moduluje układ fibrynolizy poprzez stymulację syntezy inhibitorów aktywatora plazminogenu typu I i II w komórkach mięśni gładkich i śródbłonna. Większość swoich działań angiotensyna II wywiera poprzez swoisty receptor AT1 (AT1R — *angiotensin II type 1 receptor*), którego ekspresję opisano zarówno w miokardium, jak i w naczyniach krwionośnych [7, 8].

Powyższe przesłanki sugerują udział aktywności RAA w patogenezie naciśnienia tętniczego i jego powikłań. Leki hamujące aktywność RAA są z dużym powodzeniem stosowane u osób ze schorzeniami układu sercowo-naczyniowego: naciśnieniem tętniczym,

niewydolnością krążenia czy w zapobieganiu patologicznej przebudowie serca po zawale serca [9].

Od kilku lat przedmiotem zainteresowania wielu badaczy jest powiązanie polimorfizmu genów kodujących poszczególne składowe RAA: reniny, angiotensynogenu, enzymu konwertującego angiotensynę I oraz AT1R z predyspozycją do rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego oraz ze skutecznością prewencji i leczenia zarówno farmakologicznego, jak też inwazyjnego [10].

We wcześniejszych badaniach własnych autorzy nie wykazali istotnego związku naciśnienia tętniczego z wariantami polimorficznymi *I/D* genu *ACE* [11] i *A1166C* genu *AT1R* [12]. Dlatego celem naszej pracy była analiza współwystępowania wariantów polimorficznych *I/D* genu enzymu konwertującego angiotensynę I i *A1166C* genu receptora angiotensyny *AT1* w zależności od wysokości ciśnienia tętniczego.

Materiał i metody

Badaniem objęto 539 mężczyzn w wieku 44 ± 9 lat, pracowników Portu Gdańskiego, u których nie rozpoznawano wcześniej jawnej choroby wieńcowej, udaru mózgu, przemijającego niedokrwienia mózgu czy też innych schorzeń miażdżycopochodnych.

Ciśnienie tętnicze mierzono 2-krotnie w pozycji siedzącej manometrem rtęciowym. Prawidłowe ciśnienie tętnicze stwierdzano, jeżeli ciśnienie skurczowe wynosiło < 140 mm Hg i rozkurczowe < 90 mm Hg. Natomiast naciśnienie tętnicze rozpoznawano, jeżeli ciśnienie skurczowe wynosiło ≥ 140 mm Hg i/lub rozkurczowe ≥ 90 mm Hg (wg zaleceń WHO/ISH z 1999 roku [13]).

U każdej z osób określono na czczo poziom glikemii w surowicy krwi oraz cholesterolu całkowitego (TC — *total cholesterol*), frakcji HDL i triglicerydów, z których wyliczono poziom cholesterolu frakcji LDL. Nietolerancję glukozy lub cukrzycę rozpoznawano, gdy poziom glukozy na czczo przekraczał 110 mg/dl. U wszystkich badanych osób zmierzono masę ciała, wzrost, obwód talii i bioder, z których wyliczono wskaźnik masy ciała (BMI — *body mass index*) i stosunek obwodu talii do bioder (WHR — *waist to hip ratio*). W trakcie zbierania wywiadu każdą z osób pytano o palenie tytoniu aktualnie i w przeszłości. Za osoby palące uznano te, które nadal paliły lub zaprzestały palenia tytoniu w ciągu ostatnich 7 lat.

Do badań genetycznych zostały włączone tylko te osoby, które wyraziły pisemną zgodę po zapoznaniu się z planem projektu zaaprobowanym przez Terenową Komisję ds. Etyki i Badań Naukowych przy Akademii Medycznej w Gdańsku.

Badania molekularne wykonywano w Katedrze i Zakładzie Biologii i Genetyki AM w Gdańsku. Materiał stanowiła krew obwodowa pobrana do probówki zawierającej etylenodwuaminoczworowocjan (EDTA). Izolacji genomowego DNA z krwi obwodowej dokonano metodą enzymatyczną za pomocą komercyjnego zestawu *Blood DNA Prep Plus* (A&A Biotechnology Gdańsk).

Badanie polimorfizmu I/D genu ACE wykonano za pomocą łańcuchowej reakcji polimerazy DNA (PCR — *polymerase chain reaction*), opisaną wcześniej przez Rigata i wsp. [14]. Allele I i D identyfikowano w zależności od obecności w amplifikowanym rejonie genu fragmentu 287 pz na podstawie obrazu elektroforetycznego, uzyskanych produktów PCR, na 2-procentowych żelach agarozowych barwionych bromkiem etydy w świetle UV. Ze względu na opisywaną preferencję do amplifikacji krótszych fragmentów (allel D) i związaną z tym możliwością błędnego określenia heterozygoty ID jako homozygoty DD, wszystkie wyniki DD potwierdzano reakcją PCR z parą starterów specyficzną dla allelu I, zgodnie z metodą opisaną przez Lindpaintnera i wsp. [15].

Badanie polimorfizmu A1166C genu receptora AT1 wykonano za pomocą techniki długości fragmentów restrykcyjnych (RLFP — *restriction fragment length polymorphism*), na podstawie metody opisaną wcześniej przez Katsuya i wsp. [16]. Za pomocą reakcji PCR amplifikowano region zawierający miejsce A1166C. Stosowano zmodyfikowane startery o sekwencjach: 5'-gga tgt att gat tca act agg cat c-3' oraz 5'-aaa gtc ggt tca gtc cac ata atg c-3'. Długość pierwotnego produktu PCR wynosiła 440 pz, zaś po trawieniu enzymem restrykcyjnym DdeI (Promega, Madison, Stany Zjednoczone), według procedury zalecanej przez producenta, w zależności od genotypu, uzyskiwano następujące fragmenty: homozygota CC — 240, 140, 60 pz, heterozygota AC — 240, 200, 140, 60 pz, homozygota AA — 240, 200 pz. Identyfikacji powyższych fragmentów dokonywano za pomocą elektroforezy na 3-procentowych żelach agarozowych barwionych bromkiem etydy i wizualizacji w świetle UV.

Wszystkie obrazy żeli agarozowych były analizowane i archiwizowane za pomocą systemu komputerowego GelDoc 2000 i oprogramowania Quantity One (BIORAD, Stany Zjednoczone).

Analiza statystyczna

Wyniki podano jako średnie arytmetyczne \pm SD lub jako proporcje. Oceniano rozkład zmiennych ciągłych pod kątem jego zgodności z rozkładem nor-

malnym, stosując test Kolmogorowa-Smirnowa. Znamienność statystyczną różnic między średnimi zmiennych o rozkładzie normalnym oceniano za pomocą testu t-Studenta, a średnimi zmiennych o rozkładzie różnym od normalnego — testem Manna-Whitneya U. W wypadku porównywania więcej niż dwóch średnich posługiwano się testem wariacji ANOVA/MANOVA i testami *post hoc*. Zmienne kategoryczne oceniano za pomocą testu χ^2 . Test χ^2 został użyty do analizy zgodności uzyskanych rozkładów genotypów z równowagą Hardy-Weinberga. Związek poszczególnych genotypów z nadciśnieniem tętniczym oceniany był za pomocą wieloczynnikowej analizy logistycznej, z uwzględnieniem innych czynników ryzyka związanych z nadciśnieniem tętniczym w badanej grupie. Jako miarę ryzyka związanego z danym genotypem kalkulowano ilorazy szans (OR — *odds ratio*) z 95-procentowymi przedziałami ufności (95% CI — *confidence intervals*), z uwzględnieniem innych istotnych czynników ryzyka (*crude* i *adjusted* OR) i bez.

Obliczenia statystyczne wykonano za pomocą programu STATISTICA for Windows, wersja 5.1 (StatSoft, Stany Zjednoczone). Wartość $p < 0,05$ przyjęto za statystycznie znaczącą.

Wyniki

W badanej grupie 539 mężczyzn prawidłowe ciśnienie tętnicze stwierdzono u 298 (55%), a nadciśnienie tętnicze u 241 (45%). U mężczyzn z nadciśnieniem tętniczym stwierdzono znacząco wyższy poziom cholesterolu całkowitego, frakcji LDL cholesterolu oraz BMI, WHR, wiek i ciśnienie tętna w porównaniu z mężczyznami z prawidłowym ciśnieniem tętniczym. Podstawowe czynniki ryzyka miażdżycy naczyń wieńcowych u mężczyzn z prawidłowym ciśnieniem i z nadciśnieniem tętniczym przedstawiono w tabeli I.

W badanej grupie 539 mężczyzn stwierdzono następujący rozkład częstości genotypów polimorfizmu I/D ACE: DD — 23%, ID — 53% i II — 24%, który pozostawał w zgodzie z równowagą Hardy-Weinberga. Częstość allelu D wynosiła 49%, zaś allelu I — 51%.

Nie odnotowano występowania istotnych różnic w rozkładzie genotypów polimorfizmu I/D genu ACE między grupą osób z prawidłowym ciśnieniem tętniczym (DD — 23%, ID — 51% i II — 26%) i z nadciśnieniem tętniczym (DD — 24%, ID — 53% i II — 23%). Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładach genotypów między mężczyznami z nadciśnieniem tętniczym w modelu recesywnym (DD vs ID + II) i bez, z uwzględnieniem innych istotnych czynników ryzy-

ka podwyższonego ciśnienia tętniczego w badanej grupie (wiek, BMI, WHR, cukrzyca, cholesterol całkowity i LDL) i bez (tab. II).

W badanej grupie stwierdzono następujący rozkład polimorfizmu *A1166C* genu receptora *AT1* angiotensyny II: *AA* — 56%, *AC* — 38%, *CC* — 6%. Rozkład genotypów pozostawał w zgodzie z równowagą Hardy-Weinberga. Częstość allelu *C* wynosiła 25%, zaś allelu *A* — 75%.

Rozkład występowania genotypów w modelu dominującym *AC* i/lub *CC* w porównaniu z genotypem *AA* u osób z nadciśnieniem tętniczym i z prawidłowym ciśnieniem nie różnił się znacząco. Po uwzględnieniu innych istotnych czynników ryzyka związanych z nadciśnieniem tętniczym w badanej przez nas grupie (wiek, BMI, WHR, cukrzyca, cholesterol całkowity i LDL) również nie wykazano istotnego związku (tab. III).

Nie stwierdzono istotnego związku między podstawowymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego a wariantami polimorficznymi *I/D* genu *ACE* (tab. IV) ani wariantami polimorficznymi *A1166C* genu *AT1R* (tab. V).

Nie wykazano także istotnego związku współwystępowania wariantów polimorficznych *I/D* genu *ACE* i *A1166C* genu *AT1R* z nadciśnieniem tętniczym w badanej grupie mężczyzn, z uwzględnieniem innych istotnych czynników ryzyka (wiek, BMI, WHR, cukrzyca, cholesterol całkowity i LDL) i bez (tab. VI).

Dyskusja

Badania genetycznego podłoża schorzenia o podłożu wieloczynnikowym, jakim jest między innymi nadciśnienie tętnicze, napotyka na wiele trudności. W większości przypadków w celu ujawnienia choroby niezbędna jest kumulacja więcej niż jednego czynnika genetycznego (poligenowość). Dziedziczenie chorób wieloczynnikowych najczęściej ma charakter heterogenny, to znaczy iż zespół różnych

Tabela I. Podstawowe czynniki ryzyka miażdżycy naczyń wieńcowych wśród mężczyzn z prawidłowym ciśnieniem tętniczym i z nadciśnieniem tętniczym

Table I. Common atherosclerosis risk factors in men with or without arterial hypertension

	Prawidłowe ciśnienie tętnicze	Nadciśnienie tętnicze	p
Wiek (lata)	42,1 ± 9	46,4 ± 8	< 0,0001
TC [mg/dl]	221,7 ± 49	233,4 ± 48	0,0008
Cholesterol LDL [mg/dl]	143,9 ± 44	155,0 ± 43	0,007
Cholesterol HDL [mg/dl]	47,9 ± 17	46,6 ± 16	NS
Triglicerydy [mg/dl]	151,6 ± 120	167,3 ± 127	NS
Glukoza [mg/dl]	86,3 ± 19	89,9 ± 22	NS
BMI [kg/m ²]	26,1 ± 3	28,0 ± 4	< 0,0001
WHR	0,914 ± 0,06	0,952 ± 0,07	< 0,0001
PP [mm Hg]	44,1 ± 9	55,3 ± 15	< 0,0001
Palenie tytoniu (%)	50	51	NS
Cukrzyca (%)	3	7	0,04

TC — cholesterol całkowity, BMI — wskaźnik masy ciała, WHR — stosunek obwodu pasa do obwodu bioder, PP — ciśnienie tętna

Tabela II. Rozkłady genotypów polimorfizmu *I/D* genu *ACE* w badanej grupie w zależności od nadciśnienia tętniczego

Table II. Distribution of angiotensin converting enzyme genotypes frequency in normotensive and hypertensive men

	Prawidłowe ciśnienie tętnicze	Nadciśnienie tętnicze
<i>DD</i>	23%	24%
<i>ID</i>	51%	53%
<i>II</i>	26%	23%
Razem	100%	100%
OR <i>DD</i> vs <i>ID</i> + <i>II</i>	1,08 (95% CI 0,71–1,64), p = 0,73	
adjusted OR <i>DD</i> vs <i>ID</i> + <i>II</i>	1,21 (95% CI 0,76–1,93), p = 0,42	

Tabela III. Rozkłady genotypów polimorfizmu *A1166C* genu receptora *AT1* w badanej grupie w zależności od nadciśnienia tętniczego

Table III. Distribution of angiotensin II *AT1* receptor genotypes frequency in normotensive and hypertensive men

	Prawidłowe ciśnienie tętnicze	Nadciśnienie tętnicze
<i>AA</i>	55%	57%
<i>AC</i>	38%	38%
<i>CC</i>	7%	5%
Razem	100%	100%
OR <i>CC</i> + <i>AC</i> vs <i>AA</i>	0,94 (95% CI 0,65–1,36), p = 0,75	
adjusted OR <i>CC</i> + <i>AC</i> vs <i>AA</i>	1,03 (95% CI 0,69–1,53), p = 0,89	

Tabela IV. Podstawowe czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych w zależności od polimorfizmu I/D genu ACE**Table IV.** Common atherosclerotic risk factors in ACE gene I/D polymorphism groups

Czynnik ryzyka	DD	ID	II	p
SBP [mm Hg]	136,9 ± 23	133,9 ± 20	131,9 ± 19	0,16
DBP [mm Hg]	85,2 ± 13	84,6 ± 12	83,3 ± 11	0,43
PP [mm Hg]	51,7 ± 15	49,4 ± 13	48,6 ± 14	0,20
Wiek (lata)	43,9 ± 9	44,2 ± 9	44,8 ± 9	0,73
BMI [kg/m ²]	26,8 ± 4	27,0 ± 4	27,3 ± 4	0,69
WHR	0,923 ± ,07	0,933 ± 0,06	0,942 ± 0,07	0,09
TC [mg/dl]	228,3 ± 49	228,2 ± 49	229,7 ± 47	0,96
Cholesterol LDL [mg/dl]	152,1 ± 46	148,7 ± 45	151,7 ± 42	0,71
Cholesterol HDL [mg/dl]	47,5 ± 15	47,8 ± 18	48,0 ± 15	0,97
Triglicerydy [mg/dl]	156,3 ± 125	158,7 ± 116	158,8 ± 122	0,98
Glukoza [mg/dl]	88,4 ± 14	86,9 ± 18	89,3 ± 26	0,48
Nadciśnienie tętnicze (%)	51	51	47	0,71
Cukrzyca (%)	4	4	7	0,50
Palenie tytoniu (%)	49	53	52	0,73

SBP — skurczowe ciśnienie tętnicze, DBP — rozkurczowe ciśnienie tętnicze

Tabela V. Podstawowe czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych w zależności od polimorfizmu A1166C genu receptora AT1**Table V.** Common atherosclerotic risk factors in AT1 receptor gene A1166C polymorphism groups

Czynnik ryzyka	AA	AC	CC	p
SBP [mm Hg]	134,1 ± 20	134,2 ± 21	133,9 ± 17	0,99
DBP [mm Hg]	84,5 ± 12	84,5 ± 11	82,9 ± 9	0,66
PP [mm Hg]	49,5 ± 13	49,6 ± 15	51,5 ± 14	0,98
Wiek (lata)	44,4 ± 8	43,9 ± 9	45,2 ± 11	0,67
BMI [kg/m ²]	26,9 ± 3	27,0 ± 4	27,6 ± 4	0,71
WHR	0,933 ± 0,07	0,931 ± 0,06	0,938 ± 0,05	0,87
TC [mg/dl]	227,9 ± 51	229,3 ± 46	230,8 ± 50	0,91
Cholesterol LDL [mg/dl]	148,8 ± 45	152,0 ± 43	151,8 ± 47	0,73
Cholesterol HDL [mg/dl]	47,0 ± 16	48,5 ± 18	50,3 ± 18	0,43
Triglicerydy [mg/dl]	160,0 ± 112	156,2 ± 133	153,5 ± 102	0,91
Glukoza [mg/dl]	88,3 ± 24	87,6 ± 14	85,2 ± 11	0,67
Nadciśnienie tętnicze (%)	51	50	43	0,74
Cukrzyca (%)	5	6	3	0,77
Palenie tytoniu (%)	55	48	44	0,22

czynników genetycznych ujawnia się w postaci tej samej choroby u różnych osób. Ponadto ujawnienie się choroby, jej obraz kliniczny i przebieg są w znacznym stopniu modyfikowane przez czynniki środowiskowe [17].

Podstawą populacyjnych badań genetycznych jest porównanie częstości wskaźnika lub wskaźników genetycznych wśród osób chorych i w populacji ogólnej lub kontrolnej. Jeśli badany wskaźnik genetycz-

Tabela VI. Rozkłady genotypów polimorfizmu *I/D ACE* i *A1166C AT1R* a nadciśnienie tętnicze
Table VI. Distribution of polymorphisms *I/D ACE* and *A1166C AT1R* in relation to arterial hypertension in men

	Prawidłowe ciśnienie tętnicze	Nadciśnienie tętnicze
DD		
AA (n)	27	36
AC + CC (n)	28	22
OR CC + AC vs AA	0,59 (95% CI 0,28–1,26), p = 0,17	
adjusted OR CC + AC vs AA	0,71 (95% CI 0,31–1,62), p = 0,41	
ID		
AA (n)	71	66
AC + CC (n)	53	62
OR CC + AC vs AA	1,26 (95% CI 0,76–2,07), p = 0,36	
adjusted OR CC + AC vs AA	1,35 (95% CI 0,77–2,34), p = 0,29	
II		
AA (n)	36	35
AC + CC (n)	27	20
OR CC + AC vs AA	0,76 (95% CI 0,36–1,61), p = 0,47	
adjusted OR CC + AC vs AA	0,80 (95% CI 0,33–1,92), p = 0,61	
ID+II		
AA (n)	107	101
AC + CC (n)	80	82
OR CC + AC vs AA	1,08 (95% CI 0,72–1,64), p = 0,69	
adjusted OR CC + C vs AA	1,09 (95% CI 0,67–1,81), p = 0,71	

ny występuje znamienne częściej u osób chorych w porównaniu z grupą kontrolną, możemy podejrzewać istnienie związku między danym wskaźnikiem a chorobą (*association studies*) [18]. Wskaźnikami genetycznymi wykorzystywanymi w badaniach wielogenowego podłoża nadciśnienia tętniczego są warianty polimorficzne genów, których produkty białkowe biorą udział w patogenezie wzrostu ciśnienia tętniczego.

Wykonana przez nas analiza znaczenia interakcji wariantów polimorficznych genów *AT1R* i *ACE* dla nadciśnienia tętniczego nie wykazała istotnych zależności. Wartości OR są nieznamiennie statystycznie, głównie ze względu na małą liczebność niektórych analizowanych grup. Wskazuje to na konieczność podejmowania tego typu analiz interakcji gen-gen w odpowiednio dużych liczebnie grupach.

Przesłanką dla podjęcia badań wzajemnej interakcji między genami *ACE* i *AT1R* były nieliczne doniesienia pochodzące z piśmiennictwa. Tired i wsp. [19]

opisali dodatkowy wzrost ryzyka występowania zawału serca u osób, które oprócz genotypu *DD ACE* posiadają allel *C* w *locus AT1R*. Ryzyko wystąpienia zawału serca w grupie *DD ACE* z genotypem *AA*, *AC* i *CC* wynosiło odpowiednio 1,05; 1,52 i 3,95. W podgrupie pacjentów, u których występuje małe ryzyko choroby wieńcowej, związek ten był znacznie silniejszy, chociaż nie wykazano istotnego wpływu samego polimorfizmu *A1166C* genu receptora *AT1* na występowanie zawału serca. Jednak w opublikowanym ostatnio badaniu Keavneya i wsp. [20], przeprowadzonym wśród 4486 pacjentów z przebytym zawałem serca i 5759 osób grupy kontrolnej, uzyskano wynik negatywny. Gardemann i wsp. [21] przeprowadzili swoje badania na stosunkowo dużej grupie 2244 osób w populacji europejskiej, ale nie potwierdzili interakcji obu genów w chorobie wieńcowej i zawałe serca. Anvari i wsp. [22], którzy jako jedyjni do tej pory analizowali rolę polimorfizmu *I/D ACE* i *A1166C AT1R* w kontekście groźnych komo-

rowych zaburzeń rytmu u chorych po zawale serca, nie wykazali wzrostu ryzyka arytmii związanego z obecnością poszczególnych wariantów polimorficznych genu *ACE* i *AT1R* u chorych z implantowanym kardiowerterem-defibrylatorem. Jednak analiza interakcji gen-gen ujawniła istotny wzrost ryzyka groźnych komorowych zaburzeń rytmu u chorych z łącznym występowaniem allelu *D* genu *ACE* i allelu *C* genu *AT1R*.

Prawdopodobnie pozytywne wyniki interakcji genotypów polimorfizmu *A1166C AT1R* i *I/D ACE* muszą być interpretowane bardzo ostrożnie, ponieważ mogą być związane z przypadkowym rozkładem w małych liczebnie grupach. Konieczne jest podjęcie badań znaczenia wzajemnych interakcji genów dla nadciśnienia tętniczego i innych chorób sercowo-naczyniowych o podłożu miażdżycy w odpowiednio dużych liczebnie grupach. Uzyskane przez nas wyniki należy uznać za wstępne i zmuszające do kontynuacji badań w tym kierunku. Zwłaszcza, że w piśmiennictwie nie ma wielu dostępnych danych na temat tego typu badań.

Poznanie czynników genetycznych oraz ich roli w etiopatogenezie miażdżycy może mieć decydujące znaczenie dla stworzenia racjonalnych podstaw profilaktyki i leczenia chorób sercowo-naczyniowych. Dzięki identyfikacji osób wysokiego ryzyka możliwe będzie zmodyfikowanie znanych obecnie czynników środowiskowych, bądź w przyszłości także genetycznych, i zapobieganie rozwojowi nadciśnienia tętniczego lub jego powikłań.

Wnioski

Nie stwierdzono istotnego związku współwystępowania wariantów polimorficznych *I/D* genu *ACE* i *A1166C* genu receptora angiotensyny *AT1* z nadciśnieniem tętniczym w badanej przez autorów grupie mężczyzn.

Streszczenie

Wstęp Na występowanie pierwotnego nadciśnienia tętniczego u ludzi wpływ mają czynniki środowiskowe i genetyczne. Układ renina-angiotensyna-aldosteron wywiera znaczny wpływ na regulację ciśnienia tętniczego poprzez działanie na gospodarkę wodno-elektrolitową, funkcję śródbłonna i kurczliwość błony mięśniowej naczyń. Większość poznanych działań angiotensyna II wywiera poprzez receptor AT1. Celem naszej pracy była analiza współwystę-

powania polimorfizmów *I/D* genu *ACE* i *A1166C* genu receptora AT1 angiotensyny w zależności od wysokości ciśnienia tętniczego.

Materiał i metody Badaniem objęto 539 mężczyzn w wieku 44 ± 9 lat, u których nie rozpoznawano wcześniej jawnych schorzeń miażdżycopochodnych. U każdego badanego określono na czczo poziom glikemii i frakcji lipidów. Ponadto zmierzono ciśnienie tętnicze, masę ciała, wzrost, obwód talii i bioder. Analizę polimorfizmów *I/D* genu *ACE* i *A1166C* genu receptora AT1 angiotensyny II przeprowadzono za pomocą łańcuchowej reakcji polimerazy DNA oraz techniki długości fragmentów restrykcyjnych i elektroforezy uzyskanych produktów na żelu agarozowym.

Wyniki Wykonana analiza znaczenia interakcji wariantów polimorficznych genów *AT1R* i *ACE* dla nadciśnienia tętniczego nie wykazała istotnych zależności. Iloraz szans dla nadciśnienia tętniczego związany z genotypem *AC+CC* genu receptora AT1 wynosił 0,59 (95% CI 0,28–1,26) wśród homozygot *DD* genu *ACE*, $p = 0,36$ i 1,26 (95% CI 0,76–2,07) wśród heterozygot *ID*, $p = 0,36$ oraz 0,76 (95% CI 0,36–1,61) wśród homozygot *II*, $p = 0,61$. Współwystępowanie badanych polimorfizmów było także nieistotne statystycznie po uwzględnieniu wpływu innych czynników ryzyka miażdżycy.

Wnioski Nie stwierdzono istotnego związku współwystępowania wariantów polimorficznych *I/D* genu *ACE* i *A1166C* genu receptora angiotensyny AT1 z nadciśnieniem tętniczym w badanej przez autorów grupie mężczyzn.

słowa kluczowe: polimorfizm *I/D* genu konwertazy angiotensyny, polimorfizm genu receptora AT1 angiotensyny II, nadciśnienie tętnicze, czynniki ryzyka miażdżycy

Nadciśnienie Tętnicze 2000, tom 4, nr 4, strony 261–268.

Piśmiennictwo

- Farmer J.A., Gotto A.M.: Dyslipidemia and other risk factors for coronary artery disease. Braunwald E. red. Heart Disease A Textbook of Cardiovascular Medicine. W.B. Saunders Company, Philadelphia 1997, 1126–1160.
- Szostak W., Cybulska B.: Narodowy program profilaktyki cholesterolowej po 9 latach na tle rozwoju kardiologii zapobiegawczej w Polsce. List Informacyjny. Narodowy Program Profilaktyki Cholesterolowej 1996, 20, 7.
- Pyeritz R.E.: Genetics and cardiovascular disease. Braunwald E. red. Heart Disease A Textbook of Cardiovascular Medicine. W.B. Saunders Company, Philadelphia 1997, 1650–1686.
- Hamsten A.: Molecular genetics as the route to understanding, prevention, and treatment. Lancet 1996, 348, S187–19.
- Friedman J.M., Hayden M.R., McGillivray: Wzajemne oddziaływanie genetyki i środowiska. Limon J. red. Genetyka. Urban and Partner, Wrocław 1997, 143–164.

6. Narkiewicz K., Pawłowski R., Bigda J., Krupa-Wojciechowska B.: Zastosowanie metod biologii molekularnej w ocenie genetycznego podłoża chorób układu krążenia. *Kardiologia Polska* 1997, XLVI, 245–251.
7. Malik F., Lavie C., Mehra M., Maliani R., Re R.: Renin-angiotensin system: Genes to bedside. *Am. Heart J.* 1997, 134, 514–526.
8. Erdos E.G.: Angiotensin I-converting enzyme and the changes in our concepts throughout the years. *Hypertension* 1990, 16, 363–370.
9. Latini R., Maggioni A.P., Flather M., Sleight P., Tognoni G.: ACE inhibitor use in patients with myocardial infarction: summary of evidence from clinical trials. *Circulation* 1995, 92, 3132–3137.
10. Stajszczyk M., Gmiński J.: Rola polimorfizmu DNA układu renina-angiotensyna w patogenezie chorób układu krążenia. *Post. Hig. Med. Dośw.* 1997, 51, 171–183.
11. Bellwon J., Gruchała M., Siebert J., Wasąg B., Ochman K., Targoński R., Cieciewicz D., Limon J., Rynkiewicz A.: Polimorfizm genu konwertazy angiotensyny I a wysokość ciśnienia tętniczego i inne czynniki ryzyka miażdżycy w grupie osób bez jawnych klinicznie schorzeń miażdżycopochodnych. *Nadciśnienie Tętnicze* 1999, 3, 3, 173–181.
12. 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* 2000, 4, 1, 19–26.
13. 1999 World Health Organisation — International Society of Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension. *J. Hypert.* 1999, 17, 2, 151–184.
14. 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.* 1992, 20, 1433.
15. Lindpaintner K., Pfeffer M.A., Kreutz R. i wsp.: A prospective evaluation of an angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart disease. *N. Engl. J. Med.* 1995, 332, 706–711.
16. Katsuya T., Koike G., Yee T.W. i wsp.: Association of angiotensinogen gene T235 variant with increased risk of coronary heart disease. *Lancet* 1995, 345, 1600–1603.
17. Marian A.J.: Genetic risk factors for myocardial infarction. *Current Opinion in Cardiology* 1998, 13, 171–178.
18. Andrieu N., Goldstein A.M.: Epidemiologic and genetic approaches in the study of gene-environment interaction: an overview of available methods. *Epidemiol. Rev.* 1998, 20, 137–147.
19. Tiret L., Bonnardeaux A., Poirier O. i wsp.: Synergistic effects of angiotensin-converting enzyme and angiotensin-II type I receptor gene polymorphism on risk of myocardial infarction. *Lancet* 1994, 344, 910–913.
20. Keavney B., McKenzie C., Parish S. i wsp.: Large-scale test of hypothesised associations between the angiotensin-converting-enzyme insertion/deletion polymorphism and myocardial infarction in about 5000 cases and 6000 controls. *Lancet* 2000, 355, 434–442.
21. Gardemann A., Nguyen Q.D., Humme J. i wsp.: Angiotensin II type I receptor A1166C gene polymorphism. Absence of an association with the risk of coronary artery disease and myocardial infarction and of a synergistic effect with angiotensin-converting enzyme gene polymorphism on the risk of these diseases. *Eur. Heart J.* 1998, 19, 1657–1665.
22. Anvari A., Turel Z., Schmidt A. i wsp.: Angiotensin-converting enzyme and angiotensin II receptor I polymorphism in coronary disease and malignant ventricular arrhythmias. *Cardiovascular Research* 1999, 43, 879–883.