

Związek między polimorfizmem insercyjno-delecyjnym genu enzymu konwertazy angiotensyny I i obecnością zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych u pacjentów ze zwężeniem zastawki aortalnej

Ewa Orłowska-Baranowska¹, Grzegorz Placha², Zbigniew Gaciong²,
Dariusz Zakrzewski¹, Rafał Baranowski¹, Maciej Grabowski¹, Andrzej Bieganowski¹,
Witold Rużyłło¹ i Irena Rawczyńska-Englert¹

¹Klinika Wad Nabytych Serca Instytutu Kardiologii w Warszawie

²Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i Nadciśnienia Tętniczego Akademii Medycznej w Warszawie

The relation between an insertion-deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and coronary artery disease in patients with aortic stenosis

Background: *Assessment the relationship between the presence of the significant coronary artery disease and polymorphism of the angiotensin-converting enzyme (ACE) gene in patients with aortic stenosis.*

Material and methods: *The group of 392 patients with aortic stenosis (159 women i 233 men), mean age 61 ± 10 years with was analysed. All of them had coronary angiography before valve replacement. The genotype of ACE was also identified. Narrowing of more than 70% of the lumen of coronary artery (50% of left main artery) was treated as significant.*

Results: *Significant coronary artery stenosis was detected in 95 patients — in 30 women (19%) and 65 men (28%). Coronary stenosis were registered in 14% of women with II genotype, 20% with DI genotype and in 21% of women with DD genotype. In men coronary stenosis was present in 38% of patients with II genotype, 25% with DI genotype and in 22% of patients with DD genotype ($p < 0.05$).*

Conclusions: *In patients with aortic stenosis the relationship between significant coronary artery stenosis and ACE gene polymorphism is different in men and in women. In women significant coronary artery stenosis tends to be related with allele D, while in men arteriosclerotic changes are observed significantly more frequent in patients homozygots II.* (Folia Cardiol. 2003; 10: 161–168)

aortic stenosis, coronary artery disease, ACE gene polymorphism

Wstęp

Adres do korespondencji: Dr med. Ewa Orłowska-Baranowska
Klinika Wad Nabytych Serca IK
ul. Alpejska 42, 04–628 Warszawa
Nadesłano: 4.11.2002 r. Przyjęto do druku: 23.01.2003 r.
Praca wykonana w ramach grantu KBN nr 3P05B18822.

Układowi renina-angiotensyna-aldosteron (RAA, *renin-angiotensin-aldosteron*) przypisuje się szczególną rolę w patogenezie wielu schorzeń układu sercowo-naczyniowego. Dotyczy to głównie angiotensyny II i jej działania, między innymi promiażdżycowego, wazokonstrykcyjnego oraz pobu-

dzającego układ współczulny [1–5]. W ostatnich latach ukazały się liczne prace dotyczące roli polimorfizmu genów, których produkty białkowe są zaangażowane w mechanizmy działania układu RAA [1, 6–8]. Większość prac nad rolą wariantów polimorficznych genów układu RAA dotyczy miążdżycy tętnic wieńcowych [7, 9–12]. Jednym z kluczowych elementów układu RAA jest enzym konwertujący angiotensynę I do angiotensyny II (ACE, *angiotensin-converting enzyme*). Szczególne zainteresowanie badaczy wzbudził polimorfizm insercyjno-delecyjny (I/D) genu ACE [6, 7, 9, 10, 13].

W 1992 r. Cambien i wsp. wykazali zwiększone ryzyko zawału serca u osób z allelem D [12]. Kolejne prace potwierdzały lub zaprzeczały występowaniu związku polimorfizmu I/D ACE z miążdżycą tętnic wieńcowych lub zawałem serca [7, 8, 11, 13–15]. Dotychczas opublikowano 4 prace dotyczące polimorfizmu I/D genu ACE u chorych ze zwężeniem zastawki aortalnej [6, 16–18]. Pomimo częstego współistnienia choroby wieńcowej w tej grupie osób, żadna z prac nie poruszała związku polimorfizmu I/D z chorobą wieńcową.

Celem badań było określenie częstości występowania wariantów polimorfizmu I/D genu ACE w grupie chorych ze zwężeniem zastawki aortalnej oraz określenie związku genotypów z miążdżycą tętnic wieńcowych.

Material i metody

Badaniami objęto 392 pacjentów zakwalifikowanych do operacji wymiany zastawki aortalnej (AVR, *aortic valve replacement*) z powodu istotnego zwężenia tej zastawki, 159 (40%) kobiet i 233 (60%) mężczyzn w średnim wieku 61 ± 10 lat. Chorych z wadą zastawki mitralnej lub niedomykalnością zastawki aortalnej co najmniej umiarkowanego stopnia wykluczono z badania.

U wszystkich chorych przed AVR wykonano koronarografię. Oceniano występowanie zmian miążdżycowych w tętnicach wieńcowych. Na pod-

stawie uzyskanego wyniku pacjentów podzielono na 3 grupy: 1 — chorzy bez zmian w tętnicach wieńcowych; 2 — osoby ze zmianami istotnymi (zwężenie dużej tętnicy nasierdziejowej > 70% lub zwężenie pnia lewej tętnicy wieńcowej > 50%); 3 — chorzy ze zmianami ocenianymi jako nieistotne (zwężenia nieprzekraczające 70%).

Materiał do badań molekularnych stanowiła krew obwodowa (2 ml). Warianty polimorfizmu I/D genu ACE oznaczono, namnażając fragment introonu 16 za pomocą łańcuchowej reakcji polimerazy DNA (PCR, *polymerase chain reaction*) przy użyciu oligonukleotydów startowych obejmujących miejsce insercji. W celu identyfikacji poszczególnych alleli produkty reakcji PCR rozdzielono elektroforetycznie na 2-procentowych żelach agarozowych. Grupę kontrolną stanowiło 149 zdrowych dawców krwi [19].

Związek polimorfizmu I/D z obecnością miążdżycy tętnic wieńcowych przedstawiono jako częstość poszczególnych genotypów wśród chorych bez zmian w tętnicach wieńcowych, ze zmianami nieistotnymi lub istotnymi. W celu weryfikacji wyników oceniono częstość występowania istotnych zwężeń w tętnicach wieńcowych w genotypach II, DI oraz DD.

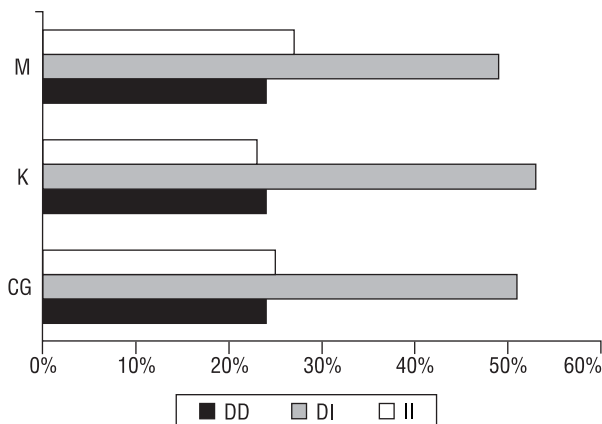
Wyniki

Objawy niewydolności wieńcowej występowały u 336 (86%) chorych, a 32 (8%) osoby przebyły zawał serca. Zmiany miążdżycowe w tętnicach wieńcowych stwierdzono u 180 (46%) pacjentów, w tym u 67 (42%) kobiet i 113 (49%) mężczyzn. Istotne zmiany w tętnicach wieńcowych zanotowano u 95 (24%) badanych — u 30 kobiet (19%) i 65 mężczyzn (28%). Szczegółowe informacje o wynikach koronarografii przedstawiono w tabeli 1. Rozkład genotypów polimorfizmu I/D genu ACE był zgodny z regułą Hardy'ego-Weinberga i wyniósł: 24% DD, 51% DI oraz 25% II; był podobny w grupie kobiet i mężczyzn (ryc. 1). Rozkłady alleli u badanych i w grupie kontrolnej nie różniły się [19].

Tabela 1. Wyniki koronarografii u chorych ze zwężeniem zastawki aortalnej

Table 1. The results of coronary angiography in patients with aortic stenosis

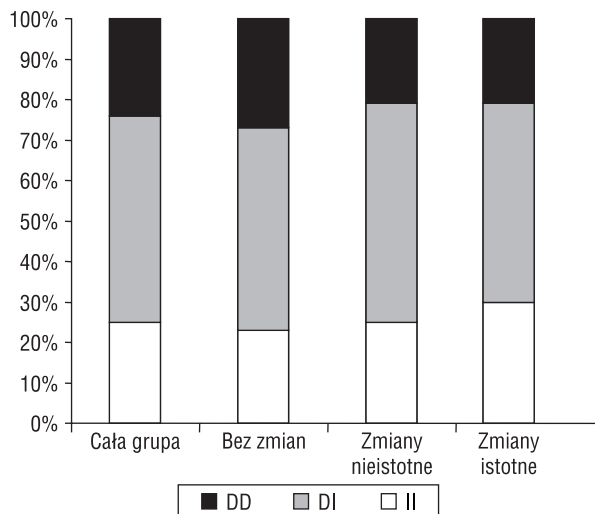
Wyniki koronarografii	Cała grupa	Kobiety	Mężczyźni
Brak zmian w tętnicach wieńcowych	212 (54%)	92 (57%)	120 (52%)
Zmiany w tętnicach wieńcowych	180 (46%)	67 (42%)	113 (49%)
nieistotne	85 (22%)	37 (24%)	48 (21%)
istotne	95 (24%)	30 (18%)	65 (28%)
Razem	392	159	233



Rycina 1. Częstość genotypów II, DI, DD konwertazy angiotensyny u pacjentów ze zwężeniem zastawki aortalnej w całej grupie (CG), u kobiet (K) i u mężczyzn (M)

Figure 1. Frequency of the II, DI and DD genotype of angiotensin-converting enzyme in patients (all (CG), women (K), men (M)) with aortic stenosis

Nie stwierdzono związku rozkładu genotypów polimorfizmu I/D z obecnością zmian w tętnicach wieńcowych w całej grupie (tab. 2, ryc. 2). Podobną analizę przeprowadzono oddzielnie dla kobiet i mężczyzn (tab. 2, ryc. 3 i 4). Istotne zmiany odnotowano u 14% kobiet z genotypem II, u 20% kobiet z genotypem DI i u 21% pacjentek z genotypem DD. U mężczyzn istotne zmiany w tętnicach wieńcowych obserwowano u 38% pacjentów z genotypem II, u 25% chorych z genotypem DI i u 22% badanych z genotypem DD; stwierdzono znamienne częst-



Rycina 2. Rozkład częstości występowania poszczególnych genotypów konwertazy angiotensyny w zależności od wyniku koronarografii u wszystkich chorych ze zwężeniem zastawki aortalnej

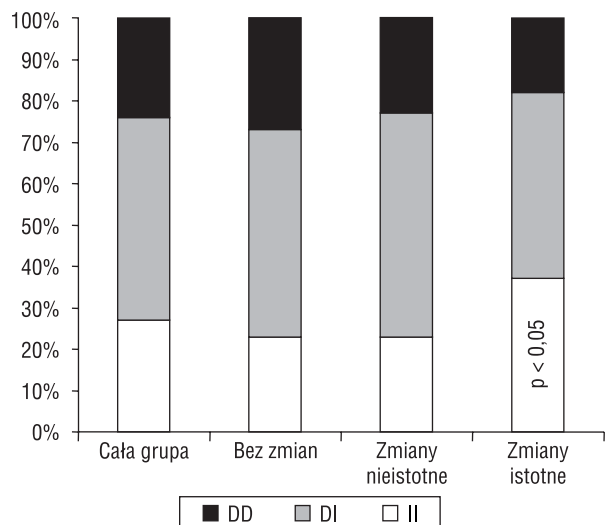
Figure 2. Frequency of the II, DI and DD genotype of angiotensin-converting enzyme in patients with aortic stenosis in relation to coronary angiography results

sze występowanie istotnych zmian tętnic wieńcowych wśród mężczyzn z genotypem II ($p < 0,05$). W grupie kobiet różnice nie były istotne. Różnice w rozkładzie występowania poszczególnych polimorfizmów I/D genu ACE wśród kobiet i mężczyzn z istotnymi zwężeniami zastawki aortalnej przedstawiono na rycinach 5 i 6.

Tabela 2. Związek polimorfizmu I/D genu konwertazy angiotensyny z miażdżycą tętnic wieńcowych

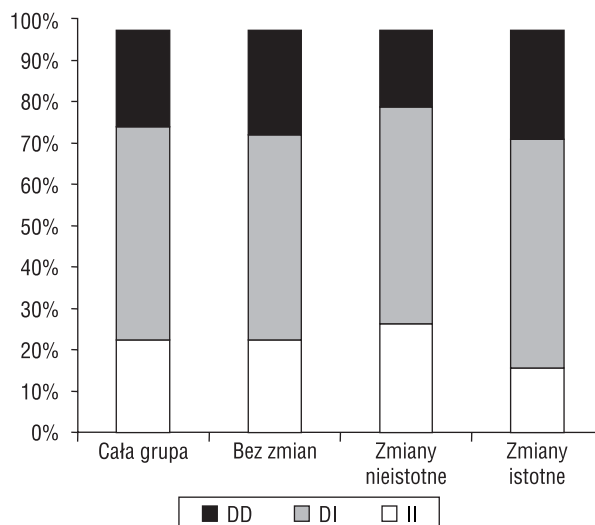
Table 2. The relation of I/D ACE gene polymorphism in patients with aortic stenosis

Wynik koronarografii	Genotyp konwertazy angiotensyny		
	II	DI	DD
Cała grupa			
bez zmian	49 (23%)	107 (50%)	56 (27%)
zmiany nieistotne	21 (25%)	46 (54%)	18 (21%)
zmiany istotne	29 (30%)	46 (49%)	20 (21%)
Kobiety			
bez zmian	21 (23%)	47 (51%)	24 (26%)
zmiany nieistotne	10 (27%)	20 (54%)	7 (19%)
zmiany istotne	5 (16%)	17 (57%)	8 (27%)
Mężczyźni			
bez zmian	28 (23%)	60 (50%)	32 (27%)
zmiany nieistotne	11 (23%)	26 (54%)	7 (19%)
zmiany istotne	24 (37%)	29 (45%)	12 (18%)



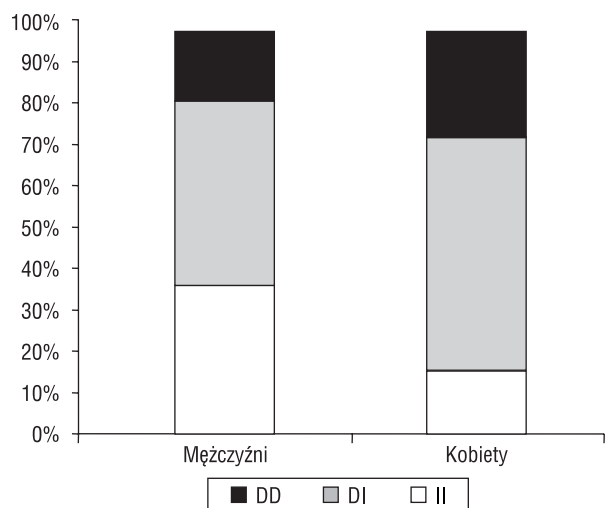
Rycina 3. Rozkład częstości występowania poszczególnych genotypów konwertazy angiotensyny w zależności od wyniku koronarografii w grupie mężczyzn

Figure 3. Frequency of the II, DI and DD genotype of angiotensin-converting enzyme in men with aortic stenosis in relation to coronary angiography results



Rycina 4. Rozkład częstości występowania poszczególnych genotypów konwertazy angiotensyny w zależności od wyniku koronarografii w grupie kobiet

Figure 4. Frequency of the II, DI and DD genotype of angiotensin-converting enzyme in women with aortic stenosis in relation to coronary angiography results

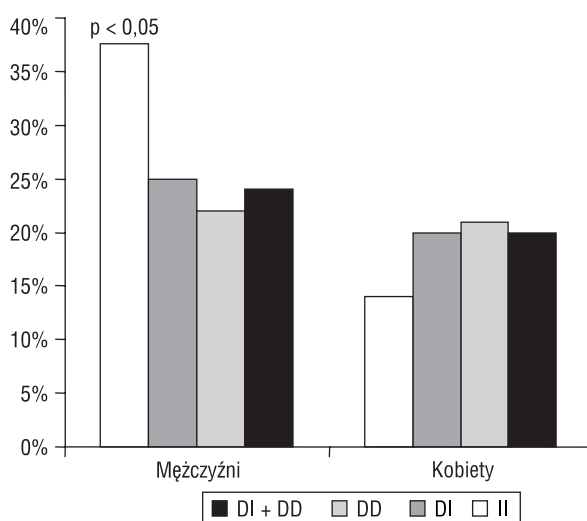


Rycina 5. Rozkład częstości występowania poszczególnych genotypów konwertazy angiotensyny w grupie kobiet i mężczyzn z istotnymi zmianami w tętnicach wieńcowych

Figure 5. Frequency of the II, DI and DD genotype of angiotensin-converting enzyme in patients with significant coronary artery stenosis in women and men with aortic stenosis

Dyskusja

W licznych badaniach autorzy zwracają uwagę na związek polimorfizmu I/D genu kodującego en-



Rycina 6. Częstość występowania istotnych zmian w tętnicach wieńcowych u kobiet i mężczyzn w zależności od genotypów konwertazy angiotensyny

Figure 6. The frequency of significant coronary artery stenosis in women and men in different genotypes of angiotensin-converting enzyme

zym konwertazy angiotensyny z występowaniem chorób układu sercowo-naczyniowego [8, 9, 20, 21].

W 1992 r. Cambien [12], badając polimorfizm genu ACE, wykazał związek między częstotliwością genotypu DD a zawalem serca u chorych należących

do grupy niskiego ryzyka. W kolejnych pracach oceniano związek polimorfizmu I/D genu ACE z obecnością miażdżycy tętnic, przerostem lewej komory serca i przebudową mięśnia sercowego po zawale [9, 15, 22]. Wyniki badań przeprowadzonych w ostatnich latach sugerowały, że genotyp DD, któremu towarzyszy wyższa aktywność i stężenie ACE we krwi i tkankach [23–25], może być niezależnym czynnikiem ryzyka zawału serca, nadciśnienia tętniczego, a także przerostu lewej komory serca [25–27]. W 1997 r. Agerholm-Larsen [9] opublikował metaanalizę obejmującą duże grupy pacjentów z miażdżycą tętnic wieńcowych potwierdzoną badaniem angiograficznym (ogółem 10 150 osób). Wykazał niewielki, ale istotny wzrost ryzyka choroby wieńcowej związany z obecnością genotypu DD (współczynnik ryzyka 1,16). Gardeman i wsp. [27] zwrócili uwagę, że allel D zwiększa ryzyko choroby wieńcowej u osób młodych. Związek choroby wieńcowej z obecnością allelu D potwierdzili również Ishigami oraz Oike i wsp. [28, 29]. Prasad i wsp. [5] wykazali zwiększone napięcie mięśniówki gładkiej naczyń wieńcowych u chorych z allelem D.

W innych badaniach nie stwierdzono istotnego związku polimorfizmu I/D z chorobą niedokrwienną serca i angiograficznie potwierdzoną miażdżycą tętnic wieńcowych. Badanie prospektywne przeprowadzone przez Lindpaintera i wsp. [30] obejmowało 3590 lekarzy. W obserwacji odległej u 1250 z nich zaobserwowano objawy choroby wieńcowej. Autorzy nie odnotowali związku z polimorfizmem I/D [30]. Podobne wyniki przedstawili Arca i wsp. oraz inni badacze [31–33] — nie wykazali zależności wyników angiograficznych od polimorfizmu I/D. Celermajer i wsp. [13] wykluczyli związek polimorfizmu I/D ACE z ostrymi zespołami wieńcowymi. Dotychczas opublikowano jedynie kilka prac opisujących wpływ polimorfizmu I/D genu ACE na obraz kliniczny pacjentów ze zwężeniem zastawki aortalnej [6, 16–18], żadna z tych prac nie dotyczyła związku polimorfizmu I/D genu ACE i współistniejącej z wadą zastawkową choroby wieńcowej.

W badanej grupie 392 chorych ze zwężeniem zastawki aortalnej rozkład genotypów polimorfizmu I/D genu ACE był zgodny z regułą Hardy’ego-Weinberga i wynosił odpowiednio: 24% DD, 51% DI oraz 25% II; był podobny w grupie kobiet i mężczyzn. Rozkłady alleli u badanych i w grupie kontrolnej nie różniły się [19].

W całej grupie nie stwierdzono istotnego związku z polimorfizmem I/D genu ACE. Analiza przeprowadzona oddzielnie dla kobiet i mężczyzn wykazała odmienny związek polimorfizmu ACE z występowaniem miażdżycy tętnic wieńcowych.

W grupie mężczyzn znamiennej częściej występowały istotne zwężenia tętnic wieńcowych w genotypie II, natomiast w grupie kobiet obserwowano tendencję odwrotną (różnica nieznamienista).

Rozbieżne wyniki cytowanych prac, a także zaskakujące wnioski z badania przeprowadzonego przez autorów niniejszego artykułu, dotyczące różnic w ocenie związku polimorfizmu I/D genu ACE z chorobą wieńcową, mogą wynikać z kilku przyczyn.

Różną częstość alleli i genotypów polimorfizmów ACE obserwuje się w poszczególnych grupach etnicznych i wiekowych. Interesującym zjawiskiem jest fakt, że w niektórych populacjach stwierdza się zmniejszanie częstości genotypu DD wraz z wiekiem. Obserwację tę w populacji osób z nadciśnieniem tętniczym tłumaczy się większą predyspozycją nosiciela genotypu DD do śmiertelnych incydentów sercowo-naczyniowych niż do choroby wieńcowej [18]. Wpływowi tego zjawiska w grupie badanej przez autorów niniejszego artykułu przeciw rozkład genotypów podobny do grupy kontrolnej (nie stwierdzono zmniejszonej częstości występowania genotypu DD).

Analizowani pacjenci ze zwężeniem zastawki aortalnej stanowią całkowicie odmienną grupę chorych. Bóle wieńcowe u tych osób występują często, nawet bez współistniejącej choroby wieńcowej. U wszystkich chorych wykonano koronarografię przed operacją wymiany zastawki aortalnej, bez względu na obecność lub brak objawów niewydolności wieńcowej. W sumie u 86% pacjentów zaobserwowano objawy niewydolności wieńcowej, a istotne zwężenia tętnic wieńcowych stwierdzono jedynie u 24% osób. Być może genotyp DD wiąże się z niestabilną blaszką miażdżycową i dlatego w części prac udało się wykazać związek allelu D z miażdżycą tętnic wieńcowych, jeśli w grupie dominowali chorzy z niestabilną postacią choroby wieńcowej. Może to tłumaczyć brak związku stopnia zaawansowania zmian w tętnicach wieńcowych i polimorfizmu I/D genu ACE. Geel i wsp. [34] wykazali związek genotypu DD i genotypu CC receptora AT₁ dla angiotensyny z ostrymi zespołami wieńcowymi, ale nie towarzyszyła temu progresja zmian miażdżycowych.

Liczba prac opartych na angiograficznej ocenie stopnia zaawansowania miażdżycy jest ograniczona. Nie opublikowano badań, w których wykonywano koronarografię również u pacjentów bez objawów i bez podejrzenia choroby wieńcowej, co pozwoliłoby na rzetelną ocenę związku polimorfizmu I/D i morfologii tętnic wieńcowych.

Interesującego, innego związku występowania polimorfizmu I/D ACE pomiędzy kobietami a męż-

czynnymi nie wyjaśniono w piśmiennictwie. W licznych badaniach podkreśla się wprawdzie różnice między kobietami i mężczyznami na przykład w adaptacji lewej komory serca do obciążenia ciśnieniowego, jakim jest zwężenie zastawki aortalnej [17, 35]. Hiperkinetyczna lewa komora, mniejsze jej wymiary, grubsza ściana częściej występują u kobiet niż u mężczyzn jako typ reakcji na przeciążenie skurczowe (nadciśnienie tętnicze, zwężenie zastawki aortalnej), pomimo podobnego stopnia zwężenia zastawki lub podobnych wartości ciśnienia tętniczego [17]. Różnice pomiędzy płciami opisywano również w strukturze i adaptacji lewej komory serca w odpowiedzi na obciążenie treningiem fizycznym [36, 37]. Schunkert i wsp. [38] zwrócili uwagę na związek genotypu DD z przerostem lewej komory, który obserwowano tylko w grupie mężczyzn z prawidłowymi wartościami ciśnienia tętniczego. Sugerowano, że identyfikacja alleli DD może być genetycznym znacznikiem zwiększonego ryzyka przerostu lewej komory u mężczyzn w średnim wieku. Różny wpływ polimorfizmu I/D genu ACE na stopień przerostu lewej komory serca w zależności od płci zaprezentowali Iwai i wsp. [39] (najwyższy w genotypie DD u mężczyzn, w II u kobiet), nie skomentowali jednak tego wyniku. O związku polimorfizmu różnych genów z płcią donoszą również Karjalainen i wsp. [40]. Nie potwierdzili wprawdzie różnic w stopniu fizjologicznego przerostu lewej komory u sportowców w zależności od polimorfizmu I/D genu ACE, wykazali jednak, że wpływ polimorfizmu M235T genu angiotensynogenu na przerost

jest inny zarówno u kobiet, jak i u mężczyzn. Podobnie w pracy Dieta i wsp. [41] większy stopień przerostu lewej komory odnotowano u sportowców płci męskiej z genotypem DD i TT angiotensynogenu.

W prezentowanej grupie chorych ze zwężeniem zastawki aortalnej związek przerostu lewej komory serca z polimorfizmem I/D był także inny u kobiet i u mężczyzn; u mężczyzn związany z obecnością genotypu DD, u kobiet z jego brakiem [17].

Dotychczas opisano wiele genów podejrzanych o współdziałanie w patogenezie choroby niedokrwiennej serca. Geny te zwane genami kandydatami kodują białka uczestniczące między innymi w regulacji napięcia naczyń krwionośnych, w metabolizmie lipidów, w procesach krzepnięcia, fibrynolizy. Obecnie przekroczono próg nowego rozdziału w kardiologii, w którym oznaczanie genów stanie się podstawą oceny zagrożenia chorobami sercowo-naczyniowymi.

Wnioski

1. U pacjentów ze zwężeniem zastawki aortalnej zależność pomiędzy polimorfizmem I/D genu ACE a występowaniem zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych jest różna u kobiet i u mężczyzn.
2. U kobiet stwierdzono tendencję do częstszego występowania istotnych zmian miażdżycowych tętnic wieńcowych u pacjentek z allelem D, natomiast u mężczyzn zmiany takie obserwowano istotnie częściej u homozygot II.

Streszczenie

Polimorfizm I/D genu ACE a choroba wieńcowa u pacjentów ze stenozą aortalną

Wstęp: *Celem pracy była ocena zależności między polimorfizmem insercyjno-delecyjnym genu konwertazy angiotensyny (ACE) a częstością występowania istotnych zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych u pacjentów z istotnym zwężeniem zastawki aortalnej.*

Materiał i metody: *Badano 392 pacjentów (159 kobiet i 233 mężczyzn) w średnim wieku 61 ± 10 lat z izolowanym zwężeniem zastawki aortalnej.*

U wszystkich pacjentów przed operacją wymiany zastawki aortalnej wykonano koronarografię oraz oznaczono warianty polimorfizmu genu ACE. Za istotne przyjęto zwężenie tętnicy wieńcowej > 70% (lub > 50-procentową zmianę w pniu lewej tętnicy wieńcowej).

Wyniki: *Istotne zmiany miażdżycowe w tętnicach wieńcowych stwierdzono u 95 badanych — u 30 kobiet (19%) i 65 mężczyzn (28%). Istotne zwężenia odnotowano u 14% kobiet z genotypem II, u 20% z genotypem DI i u 21% pacjentek z genotypem DD. U mężczyzn istotne zwężenia obserwowano u 38% pacjentów z genotypem II, u 25% z genotypem DI i u 22% badanych z genotypem DD. Znamienne częstsze istotne zwężenia stwierdzono wśród mężczyzn z genotypem II ($p < 0,05$). W grupie kobiet różnice nie były istotne statystycznie.*

Wnioski: *U pacjentów ze zwężeniem zastawki aortalnej zależność między polimorfizmem I/D genu ACE a występowaniem istotnych zmian miażdżycowych tętnic wieńcowych jest różna u kobiet i mężczyzn. U kobiet zaobserwowano tendencję do częstszego występowania istotnych zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych u pacjentek z allelem D, natomiast u mężczyzn zmiany takie zanotowano istotnie częściej u homozygot II.* (Folia Cardiol. 2003; 10: 161–168)

zwężenie zastawki aortalnej, choroba wieńcowa, polimorfizm genu ACE

Piśmiennictwo

1. Kim D., Kim J., Kim S. i wsp. Polymorphism of angiotensin converting enzyme gene is associated with circulating levels of plasminogen activator inhibitor-1. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997; 17: 3242–3247.
2. Lachurie M., Azizi M., Guyene T., Alhenc-Gelas F., Menard J. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism has no influence on the circulating renin-angiotensin-aldosterone system or blood pressure in normotensive subjects. *Circulation* 1995; 91: 2933–2938.
3. Malley J., Maslen Ch., Illingworth R. Angiotensin-converting enzyme DD genotype and cardiovascular disease in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Circulation* 1998; 97: 1780–1783.
4. Mattu R., Needham E., Galton D., Frangos E., Clarc A., Caulfield M. A DNA variant at the angiotensin-converting enzyme gene locus associated with coronary artery disease in the Caerphilly Heart Study. *Circulation* 1995; 91: 270–274.
5. Prasad A., Narayanan S., Waclawiw M., Epstein N., Quyyumi A. The insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene determines coronary vascular tone and nitric oxide activity. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000; 36: 1579–1586.
6. Ortlepp J., Breithardt O., Ohme F. Lack of association among five genetic polymorphism of the renin-angiotensin system and cardiac hypertrophy in patients with aortic stenosis. *Am. Heart J.* 2001; 141: 671–676.
7. Hibi K., Ishigami T., Kimura Kiura. i wsp. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism adds risk for the severity of coronary atherosclerosis in smokers. *Hypertension* 1997; 30: 574–579.
8. Reynolds M., Bristow M., Bush E. i wsp. Angiotensin-converting enzyme DD genotype in patients with ischaemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet* 1993; 342: 1073–1075.
9. Agerholm-Larsen B., Nordestgaard B., Steffensen R. i wsp. ACE gene polymorphism: ischemic heart disease and longevity in 10150 individuals. *Circulation* 1997; 95: 2358–2367.
10. Anvari A., Turel Z., Schmidt A. i wsp. Angiotensin-converting enzyme and angiotensin II receptor 1 polymorphism in coronary disease and malignant ventricular arrhythmias. *Cardiovasc. Res.* 1999; 43: 879–883.
11. Arbustini E., Grasso M., Fasani R. i wsp. Angiotensin converting enzyme gene deletion allele is independently and strongly associated with coronary atherosclerosis and myocardial infarction. *Br. Heart J.* 1995; 74: 584–591.
12. 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.
13. Celermajer D., Sorensen K., Barley J., Jeffrey S., Carter N., Deanfield J. Angiotensin-converting enzyme genotype is not associated with endothelial dysfunction in subjects without other coronary risk factors. *Atherosclerosis* 1994; 111: 121–126.
14. Bray P., Cannon Ch., Goldschmidt-Clermont P. i wsp. The platelet PIA2 and angiotensin-converting enzyme (ACE) D allele polymorphism and the risk of recurrent events after acute myocardial infarction. *Am. J. Cardiol.* 2001; 88: 347–352.
15. Samanti N., Thompson J., Otoole L., Channer K. i wsp. A metaanalysis of the association of the deletion allele of the angiotensin-converting enzyme with myocardial infarction. *Circulation* 1996; 94: 708–712.
16. Dellgren G., Eriksson M., Blange I. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism influences degree of left ventricular hypertrophy and its regression in patients undergoing operation for aortic stenosis. *Am. J. Cardiol.* 1999; 84: 909–913.
17. Orłowska-Baranowska E., Placha G., Zakrzewski D. i wsp. Polimorfizm insercyjno/delecyjny enzymu konwertującego angiotensynę ma odmienny wpływ na wielkość przerostu lewej komory u kobiet i mężczyzn ze zwężeniem zastawki aortalnej. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2002; 58: 25–36.
18. Wong K., Summers K., Burstow D. Genetic variants of proteins from the renin angiotensin system are associated with pressure load cardiac hypertrophy. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 1996; 23: 587–590.
19. Gaciong Z., Religa P., Placha G., Rell K., Pączek L. ACE genotype and progression of IgA nephropathy. *Lancet* 1995; 346: 570–575.

20. Nakai K., Itoh C., Miura Y. i wsp. Deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is associated with serum ACE concentration and increased risk for CAD in the Japanese. *Circulation* 1994; 90: 2199–2202.
21. Olivieri O., Grazioli S., Pizzolo F. i wsp. Different impact of deletion polymorphism of gene on the risk of renal and coronary artery disease. *J. Hypertens.* 2002; 20: 37–43.
22. Gardemann A., Weiss T., Schwartz O. i wsp. Gene polymorphism but not catalytic activity of angiotensin I converting enzyme is associated with coronary artery disease and myocardial infarction in low-risk patients. *Circulation* 1995; 92: 2796–2799.
23. Danser A., Schalekamp M., Bax W. i wsp. Angiotensin-converting enzyme in human heart. Effect of the deletion/insertion polymorphism *Circulation* 1995; 92: 1387–1388.
24. Rigat B., Hubert C., Alhenc-Gelas F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene account for half the variance of serum enzyme levels. *J. Clin. Invest.* 1990; 86: 1343.
25. Henrion D., Benessiano J., Philip I. i wsp. The deletion genotype of the angiotensin I-converting enzyme is associated with an increase vascular reactivity in vivo and in vitro. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1999; 34: 830–836.
26. Buikema H., Pinto Y., Rooks G. i wsp. The deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene is related to phenotypic differences in human arteries. *Eur. Heart J.* 1996; 17: 787–794.
27. Gardeman A., Fink M., Stricker J. i wsp. ACE I/D gene polymorphism: presence of the ACE D allele increases the risk of the coronary artery disease in younger individuals. *Atherosclerosis* 1998; 139: 153–159.
28. Ishigami T., Umemura S., Iwamoto T. i wsp. Molecular variant of angiotensinogen gene is associated with coronary atherosclerosis. *Circulation* 1995; 91: 951–954.
29. Oike Y., Hata A., Ogata Y., Numata Y., Shido K., Kondo K. Angiotensin converting enzyme as a genetic risk factors for coronary artery spasm. Implication in the pathogenesis of myocardial infarction. *J. Clin. Invest.* 1995; 96: 2975–2979.
30. Lindpaintner K., Pfeffer M., Kreutz R. i wsp. Prospective evaluation of an angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and the risk of ischaemic heart disease. *N. Engl. J. Med.* 1995; 332: 706–711.
31. Arca M., Pannitteri G., Campagna F. i wsp. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism is not associated with coronary atherosclerosis and myocardial infarction in a sample of Italian patients. *Eur. J. Clin. Invest.* 1998; 28: 485–490.
32. Friedl W., Krempler F., Paulweber B., Pichler M., Sandhofer F. A deletion polymorphism in the angiotensin converting enzyme gene is not associated with coronary heart disease in an Austrian population. *Atherosclerosis* 1995; 112: 137–143.
33. Fujimura T., Yokota M., Kato S. i wsp. Lack of association of angiotensin converting enzyme gene polymorphism or serum enzyme activity with coronary artery disease in Japanese subject. *Am. J. Hypertens.* 1997; 10: 1384–1390.
34. Geel P., Pinto Y., Zwinderman A. i wsp. Increased risk for ischaemic events is related to combined RAS polymorphism. *Heart* 2001; 85: 458–462.
35. Hayward C., Webb C., Collins P. Effect of sex hormones on cardiac mass. *Lancet* 2001; 357: 1354–1356.
36. Montgomery H., Clarkson P., Dollery C. i wsp. Association of angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism with change in left ventricular mass in response to physical training. *Circulation* 1997; 96: 741–747.
37. Myerson S., Montgomery H., Whittingham M. i wsp. Left ventricular hypertrophy with exercise and ACE gene insertion/deletion polymorphism. A randomised controlled trial with losartan. *Circulation* 2001; 103: 226–230.
38. Schunkert H., Hens H., Holler S. Association between a deletion polymorphism of the angiotensin-converting-enzyme gene and left ventricular hypertrophy. *N. Engl. J. Med.* 1994; 330: 1634–8216.
39. Iwai N., Ohmichi N., Nakamura Y. i wsp. DD genotype of the angiotensin-converting enzyme is a risk factor for left ventricular hypertrophy. *Circulation* 1994; 90: 2622–2628.
40. Karjalainen J., Kujala U., Stolt A. Angiotensinogen gene M235T polymorphism predicts left ventricular hypertrophy in endurance athletes. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1999; 34: 494–499.
41. Diet F., Graf C., Mahnke N. i wsp. ACE and angiotensinogen gene genotypes and left ventricular mass in athletes. *Eur. J. Clin. Invest.* 2001; 31: 836–842.