

Associations between the age at surgical repair in patients with abdominal aortic aneurysms and aortoiliac occlusive disease and smoking and dyslipidemia with reference to *PON1–108C>T* genotype

Asocjacje pomiędzy wiekiem operowanych chorych z tętniakiem aorty brzusznej lub miażdżycą aortowo-biodrową a paleniem tytoniu i dyslipidemią w kontekście genotypu *PON1–108C>T**

Ewa Strauss¹, Krzysztof Waliszewski², Waclaw Majewski², Andrzej L. Pawlak¹

¹Institute of Human Genetics Polish Academy of Sciences in Poznan (Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu)

²Department of General and Vascular Surgery, Poznan University of Medical Sciences (Klinika Chirurgii Ogólnej i Naczyń, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu)

Abstract

Background. The pathogenesis of abdominal aortic aneurysms (AAA) and aorto-iliac occlusive disease (AIOD) is multifactorial, and both genetic and environmental factors are involved in the initiation and progression of pathological changes in the aorta. This study is concerned with associations between the age of AAA and AIOD surgical repair and the classical vascular risk factors as well as the paraoxonase 1 (*PON1*)–108C>T genotypes.

Material and methods. The study was conducted on 2 groups: the first group comprised 330 subjects with AAA, and the second group 250 subjects with AIOD. *PON1*–108C>T polymorphism was ascertained by the PCR-RFLP method.

Results. The frequencies of –108T allele, which determine lower paraoxonase level, were similar in the groups of AAA (0.462) and AIOD (0.479) patients. The lower surgical repair age in patients in both groups was significantly associated with smoking and the higher levels of total cholesterol (TC), low density lipoprotein cholesterol (LDLC), and triglycerides (TG) and values of TC/HDLC. In the AAA group the same negative relation was noted with BMI index. The higher values of %HDLC display the protective effect on AAA/AIOD progression. In the AIOD group positive relations were also seen with HDLC/LDLC index and diabetes. Associations between high density lipoprotein cholesterol (HDLC) fraction and age of AIOD repair were stronger in –108T allele carriers. Age of AAA surgical repair was independently related to smoking and TG level, and age of AIOD surgical repair was independently related to smoking, diabetes and TC level. These effects were stronger in *PON1*–108CC homozygotes.

Address for correspondence (Adres do korespondencji):

Mgr Ewa Strauss
Instytut Genetyki Człowieka PAN
ul. Strzeszyńska 32, 60–479 Poznań
Tel: +48 (61) 657 92 27, fax: +48 (61) 823 32 35
e-mail: strauss@man.poznan.pl

Conclusions. Smoking and impaired lipid profile are prevailing factors determining the rate of AAA and AIOD progression. In the absence of these risk factors, the genetically determined low paraoxonase level may induce the progression of alterations in the aorta, particularly in the case of AIOD.

Key words: abdominal aortic aneurysm, AAA, aortoiliac occlusive disease, AIOD, progression, paraoxonase I, PON1, polymorphism

Streszczenie

Wstęp. Patogeneza tętniaków aorty brzusznej (AAA) i miażdżycy aortalno-biodrowej (AIOD) jest uwarunkowana wieloma czynnikami. Czynniki genetyczne i środowiskowe wpływają zarówno na inicjację, jak i progresję zmian w aorcie. W niniejszym badaniu oceniono asocjacje między wiekiem operacyjnym chorych z AAA i AIOD a występowaniem i nasileniem uznanych czynników ryzyka chorób naczyń oraz genotypem PON1-108C>T.

Material i metody. Badanie przeprowadzono w grupach 330 chorych z AAA oraz 250 chorych z AIOD. Polimorfizm PON1-108C>T oznaczono za pomocą metody PCR-RFLP.

Wyniki. Częstość występowania allela PON1-108T w grupach AAA (0,462) i AIOD (0,479) okazała się zbliżona. W obu grupach chorych młodszy wiek operowanych wiązał się istotnie z paleniem tytoniu, wysokimi stężeniami cholesterolu całkowitego (TC), frakcji LDL i triglicerydów oraz wartościami stosunku cholesterolu całkowitego i frakcji HDL. W przypadku AAA występował również ujemny związek z wartościami wskaźnika masy ciała. Wysoki odsetek cholesterolu frakcji HDL wykazywał ochronny efekt w odniesieniu do progresji AAA/AIOD. W AIOD występował również dodatni związek z wartościami stosunku stężenia cholesterolu frakcji HDL i LDL i występowaniem cukrzycy. Asocjacje między cholesterolem frakcji HDL a wiekiem chorych na AIOD okazały się silniejsze u nosicieli allela -108T. Wykazano niezależne powiązanie pomiędzy wiekiem operacyjnym w przypadku AAA a obecnością nałogu palenia tytoniu oraz wartością triglicerydów u operowanego. Stwierdzono też istnienie zależności pomiędzy wiekiem operacyjnym w przypadku AIOD a wartościami TC, obecnością nałogu palenia tytoniu oraz występowaniem cukrzycy u chorego. Powyższe oddziaływania występowały w większym nasileniu u osób będących homozygotami -108CC.

Wnioski. Palenie tytoniu i zaburzenia gospodarki lipidowej są czynnikami o przeważającym wpływie na szybszą progresję AAA i AIOD. U osób, u których te czynniki nie występują, w szczególności w przypadku AIOD, genetycznie uwarunkowane obniżone stężenie paraoksonazy I może wpływać na przyspieszoną progresję zmian w aorcie.

Słowa kluczowe: tętniak aorty brzusznej, AAA, miażdżycza aortalno-biodrowa, AIOD, progresja, paraoksonaza I, PON1, polimorfizm

Acta Angiol 2008; 14, 4: 131-146

Introduction

Abdominal aortic aneurysm (AAA) and aortoiliac occlusive disease (AIOD) are common in developed countries. Abdominal aortic aneurysm is a local dilatation of the aorta, exceeding the lumen diameter by 3 cm, localized below the renal arteries [1]. The disease mainly affects older males. Screening ultrasonographic studies performed in a population group of 6386 persons from Northern Norway, aged 25-84 years, disclosed the presence of this dilatation in 8.9% of males and in 2.2% of females, and all cases were above 47 years of age [2].

Aortoiliac occlusive disease is considered a symptom of systemic atherosclerosis. The atherosclerotic plaques are localized in the distal segment of the abdominal aorta and may extend to the iliac arteries causing

Wstęp

Tętniak aorty brzusznej (AAA) oraz miażdżycza aortalno-biodrowa (AIOD) należą do chorób często występujących w krajach uprzemysłowionych. Istotę AAA stanowi miejscowe rozszerzenie światła aorty poniżej tętnic nerkowych do średnicy powyżej 3 cm [1]. Choroba dotyczy głównie mężczyzn i występuje u osób w starszym wieku. W przesiewowych badaniach ultrasonograficznych przeprowadzonych u 6386 osób z północnej Norwegii wykazano, że średnia częstość występowania tętniaków aorty brzusznej w przedziale wieku 25-84 lata wynosi 8,9% w wypadku mężczyzn i 2,2% u kobiet, przy czym nie stwierdza się przypadków AAA u osób poniżej 47 roku życia [2].

Uważa się, iż AIOD jest jednym z przejawów miażdżycy uogólnionej. Zmiany miażdżycowe zlokaliz-

symptoms related to their occlusion and lower extremities ischaemia [3].

It is generally assumed that, in spite of the atherosclerotic changes concurring with AAA, and the multiple common risk factors, the pathogenesis of aneurysm development involves mechanisms which differ from those operating in the development of atherosclerosis and AIOD. The patient-specific spectrum of risk factors has a significant impact on the susceptibility to, and progression of, the disease. The studied diseases are determined by multiple risk factors, and the genetic component of pathogenesis is polygenic [4–6].

Paraoxonase I is the lactonase which is found in plasma, mainly in the fraction of high density lipoproteins (HDL). Its activity is the protection of the vascular epithelium, mainly through its participation in 2 metabolic pathways: it inhibits the oxidation of low density lipoproteins (LDL) [7, 8] and catalyses hydrolysis of homocysteine thiolactone [9]. The other substrates of this enzyme include oestrogen esters [10] and specific drugs, such as statins, and their metabolites [11].

The *PON1* gene, coding paraoxonase I, is present in the long arm of chromosome 7 [12] and contains several single nucleotide polymorphisms (SNPs). The *PON1-108C>T SNP*, through its effect on binding of the transcription factor SPI, has the greatest influence on the level of paraoxonase I in plasma [13]. This polymorphism determines 22.8% of differences in the level of *PON1* gene expression and *-108T* allele codes for the lower gene expression. It has been found that only this polymorphism, and not the coding sequence *PON1* gene polymorphisms, influences the persons response to statin treatment [14, 15].

The presented study aims to assess the effects of the known risk factors and of *PON1 -108C>T* genotypes on the age of AAA or AIOD surgical repair.

Material and methods

The study enrolled 580 patients scheduled for elective open surgery due to either AAA (330 patients) or AIOD (250 patients) referred to the Department of General and Vascular Surgery at the Medical University in Poznan in the years 1999–2008. Data regarding age, gender, weight, height, history of smoking, blood pressure, glucose and lipid subfractions, and use of medication were collected. Values of body mass index (BMI) were calculated on the basis of these parameters, and incidence of hypertension and diabetes were also found. Genetic analyses were performed on groups of 278 AAA and 219 AIOD patients.

DNA was extracted from lymphocytes of circulating blood by chemical method in which guanidine iso-

zowane są w końcowym odcinku aorty i mogą obejmować tętnice biodrowe, prowadząc do ich niedrożności i ostatecznie do wystąpienia objawów niedokrwienia kończyn dolnych [3].

Powszechnie uważa się, że pomimo współwystępowania zmian miażdżycowych u chorych z AAA oraz licznych wspólnych czynników ryzyka mechanizmy patogenezy tętniaków różnią się od mechanizmów rozwoju miażdżycy. Występujące u poszczególnych chorych czynniki ryzyka mają decydujące znaczenie zarówno w podatności, jak i progresji zmian. Patogeneza chorób aorty objętych niniejszym badaniem jest wieloczynnikowa i wielogenowa [4–6].

Paraoksonaza I jest laktonazą i występuje w osoczu, głównie we frakcji lipoprotein o dużej gęstości (HDL). Oddziaływanie ochronne aktywności paraoksonazy I w odniesieniu do śródbłonna naczyń krwionośnych wiąże się z udziałem tego enzymu w hamowaniu procesu utlenienia lipoprotein o małej gęstości (LDL) [7, 8] i hydrolizie tiolaktonu homocysteiny [9]. Wśród substratów enzymu znajdują się także estry estrogenów [10] oraz niektóre leki i ich metabolity, takie jak statyny [11].

Gen kodujący paraoksonazę I znajduje się na długim ramieniu chromosomu 7 [12] i cechuje go występowanie licznych miejsc polimorficznych typu SNP (polimorfizmu pojedynczych nukleotydów). Występujący w pozycji *PON1-108* polimorfizm *C > T* wywiera największy wpływ na stężenie białka w osoczu ze względu na lokalizację w obrębie sekwencji wiązania czynnika transkrypcyjnego Sp1 [13]. Polimorfizm ten wpływa na 22,8% różnic w poziomie ekspresji *PON1*, a allel *-108T* warunkuje niższą ekspresję genu. Wykazano, że ten polimorfizm w odróżnieniu od polimorfizmów w regionie kodującym jako jedyny może oddziaływać na podatność na leczenie statynami [14, 15].

Celem niniejszego badania jest ocena wpływu czynników ryzyka chorób naczyń oraz genotypu *PON1-108C > T* na wiek operacyjny chorych z AAA i AIOD.

Material i metody

Badaniem objęto 580 chorych zakwalifikowanych do elektywnej operacji w zabiegu otwartym z powodu AAA (330 chorych) i AIOD (250 chorych) w Klinice Chirurgii Ogólnej i Naczyń Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu w latach 1999–2008. U chorych oceniono wiek, płeć, masę ciała, wzrost, palenie tytoniu, wartości ciśnienia tętniczego, stężenie glukozy, frakcji lipidowych oraz stosowane leki. Na podstawie zebranych parametrów wyznaczono wartości wskaźnika masy ciała (BMI), określono częstość występowania nadciśnienia tętniczego i cukrzycy. Badania genetycz-

thiocyanate and phenol were used to purify samples from proteins. The *PON1-108C>T* polymorphism was ascertained by PCR-RFLP (polymerase chain reaction — restriction fragments length polymorphism) method according to the procedure described by Brophy et al. [16]. Genotype frequencies were tested for Hardy-Weinberg equilibrium using the χ^2 test (www: <http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>).

The differences in the occurrence and intensity of vascular risk factors between the studied groups of patients, as well as in lipid fractions in persons differing in the *PON1-108C>T* genotypes, were assessed using the two-sided χ^2 test (qualitative variables) or t test (quantitative variables). The quantitative variables displaying deviation from the normal distribution were log-transformed. The Pearson correlation coefficients (*r*) were estimated for assessment of the relation between the studied risk factors and the age of the operated patients. The independent factors influencing the age of surgical repair were assessed by stepwise regression analysis. The observed differences were considered statistically significant at $p < 0.05$. Statistical analysis was performed using *Statistica 8.0*.

Results

Characteristics of patients

Analysis of the demographical parameters in the studied groups shows that AAA patients, in comparison to AIOD patients, were older and included a higher percentage of males. The mean age of the AAA patients (68.6 years) was 8 years higher than the mean age of the AIOD group (60.4 years; $p < 0.0001$), and the male participation in these groups was 85.2% and 75.2%, respectively ($p = 0.003$, Table I). The mean aneurysm diameter was 63.4 ± 4.5 mm (range 45–120 mm). Aneurysms of the iliac arteries were found in nearly 1/3 of AAA patients ($n = 107$).

The profiles of the frequency and intensity of the modifiable risk factors of vascular diseases in both groups did not differ in such categories as hypertension, diabetes, and most of the lipid parameters, whereas smoking was noted more frequently in patients with AIOD, and higher values of BMI in patients with AAA (Table I). The only differences in the lipid and lipoprotein profiles were the higher values of TG in the AIOD group compared to the AAA group (1.87 mmol/L vs. 1.71 mmol/L; $p = 0.04$).

PON1-108C>T genotype

No deviations from the Hardy-Weinberg equilibrium were found with relation to the *PON1-108C>T*

ne wykonano u 278 chorych z AAA i 219 chorych z AIOD.

Izolację genomowego DNA z limfocytów krwi obwodowej przeprowadzono metodą chemiczną z zastosowaniem izotiocyanianu guanidyny oraz fenolu do oczyszczenia z białek. Polimorfizm *PON1-108C>T* oznaczono przy użyciu metody PCR-RFLP (reakcja cykliczna polimerazy — polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych) na podstawie procedury opisanej przez Brophy i wsp. [16]. Analizę zgodności rozkładu genotypów z prawem Hardy'ego-Weinberga przeprowadzono za pomocą testu χ^2 (dostępne na: www: <http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>).

Różnice w występowaniu i nasileniu czynników ryzyka między badanymi grupami chorych oraz w wartościach frakcji lipidowych między osobami różniącymi się pod względem genotypu *PON1* oceniono za pomocą dwustronnego testu χ^2 (zmiennie jakościowe) lub testu *t*-Studenta (zmiennie ilościowe), przy czym parametry ilościowe wykazujące istotne odchylenie od rozkładu normalnego poddano transformacji logarytmicznej. Wyznaczono wartości współczynników korelacji *Pearsona* (*r*) dla określenia relacji między badanymi czynnikami ryzyka a wiekiem operacyjnym chorych. Czynniki o niezależnym wpływie na wiek operacyjny wytypowano z zastosowaniem regresji krokowej. Obserwowane różnice uznano za statystycznie istotne przy wartościach $p < 0,05$. Ocenę statystyczną przeprowadzono za pomocą programu *Statistica 8.0*.

Wyniki

Charakterystyka chorych

Wśród chorych z AAA częściej niż w grupie pacjentów z AIOD występowały mężczyźni i osoby starsze. Średnia wieku chorych z AAA (68,6 roku) była o 8 lat wyższa od średniej chorych z AIOD (60,4 roku; $p < 0,0001$), a udział mężczyzn w badanych grupach równał się odpowiednio 85,2% i 75,2% ($p = 0,003$; tab. I). Średni rozmiar tętniaka u badanych chorych wynosił $63,4 \pm 4,5$ mm (przedział 45–120 mm). U blisko 1/3 chorych z AAA ($n = 107$) stwierdzono współistnienie tętniaków w tętnicach biodrowych.

Częstość występowania i nasilenia takich modyfikowalnych czynników ryzyka chorób naczyń, jak nadciśnienie, cukrzyca oraz większość parametrów gospodarki lipidowej nie różniła się między badanymi grupami chorych (tab. I). Palenie tytoniu istotnie częściej stwierdzano u chorych z AIOD, a podwyższone wartości wskaźnika BMI u chorych z AAA. Jedynym czynnikiem różniącym badane grupy chorych w zakresie stężenia lipidów i lipoprotein osocza były wartości triglicerydów,

Table I. Baseline characteristics of studied groups of patients with abdominal aortic aneurysm (AAA) and aortoiliac occlusive disease (AIOD)**Tabela I.** Ogólna charakterystyka badanych grup chorych z tętniakiem aorty brzusznej (AAA) oraz chorych z miażdżycą aortalno-biodrową (AIOD)

Parameter Parametr	AAA (n = 330)	AIOD (n = 250)	p
Age [years] $\bar{X} \pm SD$ Wiek [lata]	68.6 \pm 8.5	60.4 \pm 8.7	< 0.0001**
Range Przedział	49–94	43–80	
Gender (male) Płeć (mężczyźni)	281 (85.2%)	188 (75.2%)	0.003
Arterial hypertension Nadciśnienie tętnicze	223 (67.6%)	155 (62.0%)	NS
Smoking Palenie tytoniu	258 (78.2%)	222 (88.8%)	< 0.0001
BMI [kg/m ²]; $\bar{X} \pm SD$	26.49 \pm 3.96	24.46 \pm 4.31	< 0.0001
Diabetes Cukrzyca	83 (25.2%)	64 (25.6%)	NS
Glucose level [mmol/L]; $\bar{X} \pm SD$ Stężenie glukozy [mmol/L]	6.00 \pm 1.82	6.16 \pm 2.12	NS
Lipids and lipoproteins profile [mmol/L]; $\bar{X} \pm SD$ Profil lipidów i lipoprotein [mmol/L]			
TC	5.45 \pm 1.39	5.64 \pm 1.53	NS
HDLc	1.19 \pm 0.38	1.21 \pm 0.37	NS
%HDLc	22.69 \pm 7.48	22.51 \pm 7.79	NS
LDLc	3.43 \pm 1.23	3.54 \pm 1.36	NS
TG	1.71 \pm 0.87	1.87 \pm 0.98	0.04
HDLc/LDLc	0.39 \pm 0.21	0.39 \pm 0.20	NS
TC/HDLc	4.87 \pm 1.54	5.07 \pm 2.16	NS
Aneurysm diameter [mm]; $\bar{X} \pm SD$ Średnica tętniaka [mm]	63.4 \pm 4.5	NA	NA
Range Przedział	45.0–120.0		
Aneurysms in iliac arteries Tętniaki tętnic biodrowych	107 (32.4%)	0 (0%)	NA
<i>PON1</i> -108C>T genotype Genotyp <i>PON1</i> -108C>T			
CC	74 (26.6%)	56 (25.6%)	–
CT	151 (54.3%)	116 (53.0%)	–
TT	53 (19.1%)	47 (21.5%)	NS
-108T allele frequency Częstość allele -108T	0.462	0.479	NS

*number of patients (liczba przypadków): AAA = 278; AIOD = 219; **parameter log-transformed (parametr transformowany logarytmicznie); SD — standard deviation (odchylenie standardowe); \bar{X} — mean (średnia); NA — not analyzed (nie oceniano); NS — not significant (nieistotne statystycznie); BMI — body mass index (wskaznik masy ciała); TC — total cholesterol (cholesterol całkowity); HDLc — high density lipoprotein cholesterol (cholesterol frakcji HDL); LDLc — low density lipoprotein cholesterol (cholesterol frakcji LDL); TG — triglycerides (triglicerydy)

genotypes in both studied groups. A slight increase in the frequency of *PON1*-108T allele, which determines the lower expression of paraoxonase I, as well as in the frequency of *PON1*-108TT homozygotes, was noted in the patients with AIOD (0.479 and 21.5%, respectively). In the group of AAA patients the corresponding frequencies were 0.462 and 19.1%. The frequencies of the *PON1*-108C>T genotypes did not differ

znacząco wyższe u chorych z AIOD (1,87 mmol/L) niż u pacjentów z AAA (1,71 mmol/L; p = 0,04).

Genotyp *PON1*-108C>T

Stwierdzone częstości genotypów *PON1*-108C>T w każdej z badanych grup okazały się zgodne z prawem Hardy'ego-Weinberga. Nieznacznie wyższą częstość allele *PON1*-108T (warunkującego niższą ekspre-

Table II. Correlation analysis for associations between vascular risk factors and age of abdominal aortic aneurysm (AAA) and aortoiliac occlusive disease (AIOD) surgical repair (log-transformed; ln-age)**Tabela II.** Korelacje czynników ryzyka z wiekiem operowanych chorych z tętniakiem aorty brzusznej (AAA) oraz chorych z miażdżycą aortalno-biodrową (AIOD) (transformowanym logarytmicznie; ln-wiek)

Parameter Parametr	AAA (n = 330)		In-age of operated patients ln-wiek operacyjny chorych	
	r	p	r	p
Gender (male) Płeć (mężczyźni)	-0.077	NS	0.067	NS
Arterial hypertension Nadciśnienie tętnicze	-0.029	NS	0.069	NS
Smoking* Palenie tytoniu*	-0.232	< 0.0001	-0.200	< 0.0001
BMI	-0.134	0.015	-0.043	NS
Diabetes Cukrzyca	0.016	NS	0.172	0.006
Glucose level Stężenie glukozy	0.031	NS	0.046	NS
Levels of lipids and lipoproteines Stężenie lipidów i lipoprotein				
TC	-0.168	0.002	-0.289	< 0.0001
HDLC	-0.017	NS	-0.008	NS
%HDLC	0.112	0.04	0.203	0.001
LDLC	-0.109	< 0.05	-0.219	< 0.0001
TG	-0.228	< 0.0001	-0.213	< 0.0001
HDLC/LDLC	0.043	NS	0.191	0.002
TC/HDLC	-0.145	0.008	-0.206	< 0.0001
Aneurysm diameter Średnica tętniaka	0.141	0.07	NA	NA
Aneurysms in iliac arteries Tętniaki tętnic biodrowych	-0.030	NS	NA	NA
Dose of <i>PON-108T</i> allele** Dawka allele <i>PON-108T</i> **	0.031	NS	0.092	NS

BMI — body mass index (wskaźnik masy ciała); TC — total cholesterol (cholesterol całkowity); HDLC — high density lipoprotein cholesterol (cholesterol frakcji HDL); LDL — low density lipoprotein cholesterol (cholesterol frakcji LDL); *smokers were analyzed as: past and current smokers (w ocenie palenia tytoniu uwzględniono byłych i obecnych palaczy); **number of patients (liczba przypadków): AAA = 278; AIOD = 219; r — correlation coefficient (współczynnik korelacji); NA — not analyzed (nie oceniano); NS — not significant (nieistotne statystycznie)

between the studied groups of patients. No effect of the *PON1-108T* allele on the values of plasma lipids and lipoproteins was noted (results not presented).

Relationship between risk factors and the age of operated patients

In both groups of patients smoking, high values of TC, LDLC, TG, and TC/HDLC were associated with lower age of the operated patients, whereas high values of %HDLC were associated with higher age of operated patients (Table II). In the group of AAA patients it was also shown that high values of BMI were associated with lower age of operated patients, and in the group of AIOD patients the presence of diabetes and high values of HDLC/LDLC were associated with higher age

się paraoksonazy 1) oraz homozygot *PON1-108TT* stwierdzono u chorych z AIOD (odpowiednio: 0,479 i 21,5%). W grupie AAA wartości te wynosiły 0,462 i 19,1%. Nie zaobserwowano różnic pod względem częstości genotypów *PON1-108C>T* pomiędzy badanymi grupami chorych. Nie stwierdzono również, aby obecność allele *PON1-108T* w sposób istotny wpływała na wartości frakcji lipidów i lipoprotein osocza (dane nieprezentowane).

Wpływ czynników ryzyka na wiek operowanych chorych

W obu grupach chorych palenie tytoniu, wysokie wartości stężeń cholesterolu całkowitego i frakcji LDL, triglicerydów oraz wartości stosunku stężeń choleste-

Table III. Correlation analysis for associations between vascular risk factors and age of abdominal aortic aneurysm (AAA) and aortoiliac occlusive disease (AIOD) surgical repair (log-transformed; ln-age) in subgroups classified according to *PON1-108C>T* genotype**Tabela III.** Korelacje czynników ryzyka z wiekiem operowanych chorych z tętniakiem aorty brzusznej (AAA) oraz chorych z miażdżycą aortalno-biodrową (AIOD) (transformowanym logarytmicznie; ln-wiek) w zależności od genotypu *PON1-108C>T*

Parameter Parametr	In-age of operated patients In-wiek operacyjny chorych							
	AAA (n = 278)				AIOD (n = 219)			
	<i>PON1-108CC</i>		<i>PON1-108CT+TT</i>		<i>PON1-108CC</i>		<i>PON1-108CT+TT</i>	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Gender (male) Płeć (mężczyźni)	-0.108	NS	-0.068	NS	0.170	NS	0.059	NS
Arterial hypertension Nadciśnienie tętnicze	0.064	NS	-0.086	NS	0.031	NS	0.097	NS
Smoking* Palenie tytoniu*	-0.279	0.006	-0.192	0.003	-0.387	0.07	-0.143	0.1
BMI	-0.114	NS	-0.137	0.05	0.020	NS	-0.022	NS
Diabetes Cukrzyca	0.084	NS	-0.028	NS	0.188	NS	0.109	NS
Glucose level Stężenie glukozy	-0.007	NS	0.050	NS	0.041	NS	0.015	NS
Levels of lipids and lipoproteins Stężenie lipidów i lipoprotein								
TC	-0.143	NS	-0.172	0.01	-0.308	0.02	-0.287	< 0.0001
HDLC	0.014	NS	-0.006	NS	-0.142	NS	0.008	NS
%HDLC	0.142	NS	0.132	0.06	0.061	NS	0.219	0.005
LDLC	-0.123	NS	-0.095	NS	-0.231	0.09	-0.232	0.003
TG	-0.276	0.02	-0.208	0.003	-0.113	NS	-0.201	0.01
HDLC /LDLC	0.127	NS	0.074	NS	0.073	NS	0.193	0.01
TC/HDLC	-0.142	NS	-0.132	0.06	-0.061	NS	-0.219	0.005
Aneurysm diameter Średnica tętniaka	0.078	NS	0.178	0.05	NA	NA	NA	NA
Aneurysms in iliac arteries Tętniaki tętnic biodrowych	0.034	NS	-0.048	NS	NA	NA	NA	NA

BMI — body mass index (wskaznik masy ciała); TC — total cholesterol (cholesterol całkowity); HDLC — high density lipoprotein cholesterol (cholesterol frakcji HDL); LDL — low density lipoprotein cholesterol (cholesterol frakcji LDL); TG — triglycerides (triglicerydy); *smokers were analyzed as: past and current smokers (w ocenie palenia tytoniu uwzględniono byłych i obecnych palaczy); r — correlation coefficient (współczynnik korelacji); NA — not analyzed (nie oceniano); NS — not significant (nieistotne statystycznie)

of operated patients. Among the lipid parameters, the strongest associations were seen between the age of operated AAA patients and TG ($r = -0.228$; $p < 0.0001$), and between the age of operated AIOD patients and TC ($r = -0.289$; $p < 0.0001$).

In the presented study no associations were found between the age of operated patients and gender, hypertension, glycaemia, and values of HDLC. The *PON1-108C>T* genotype did not associate directly with the age of operated patients, but the effects of the recognized factors directly associated with the age of operated patients varied according to the *PON1-108C>T* genotype.

In patients with AAA the magnitude of the correlation between the age of operated patients and smo-

rolu całkowitego do cholesterolu frakcji HDL okazały się istotnie powiązane z niższym wiekiem operowanych chorych, natomiast wysoki odsetek cholesterolu frakcji HDL wiązał się z wykonywaniem zabiegów w późniejszym wieku (tab. II). W przypadku AAA wykazano również ujemny związek między wiekiem a wartościami wskaźnika BMI, a w grupie chorych z AIOD istotne okazało się także oddziaływanie cukrzycy oraz wartości stosunku stężeń cholesterolu frakcji HDL i LDL (w przypadku obu parametrów zależność z wiekiem była dodatnia). Spośród badanych parametrów gospodarki lipidowej najsilniejszy związek z wiekiem operowanych chorych na AAA wykazano dla wartości triglicerydów ($r = -0,228$; $p < 0,0001$), a w przypadku cho-

king and TG was higher in subjects with $-108CC$ genotypes than in $-108T$ allele carriers (Table III). The correlation coefficients for association between smoking and age in relation to genotypes were -0.279 and -0.192 , and for TG and age were -0.276 and -0.208 , respectively. In the AIOD group the magnitude of negative correlation between the age of operated patients and smoking ($r = -0.387$ and $r = -0.143$, respectively) and positive correlations between the age of operated patients and diabetes ($r = 0.188$ and $r = 0.109$, respectively), in a similar way as was noted in AAA, were higher in patients with $-108CC$ genotype, compared to patients with $CT+TT$ genotypes. The genotype dependent differences in the level of association between TC values and age were lower in this group, but visibly higher in $-108CC$ homozygotes than in $-108T$ allele carriers ($r = -0.308$ and $r = -0.287$, respectively).

In contrast to the findings in AAA subjects, TG values in AIOD patients were more closely associated in the $-108T$ allele carriers. In addition, the associations of % HDLC and HDLC/LDL and TC/HDLC with the age of the operated patients were definitely stronger in patients with $-108CT + TT$ genotypes.

Independent factors regarding the age of AAA and AIOD surgical repair

Smoking and TG values were found to be the independent predictors for the age of AAA surgical repair (Table IV). Each of these factors explained 6% of the

rych na AIOD dla wartości cholesterolu całkowitego ($r = -0,289$; $p < 0,0001$).

W niniejszym badaniu nie wykazano istotnych asocjacji z wiekiem operacyjnym dla takich czynników, jak płeć, nadciśnienie tętnicze, stężenie glukozy oraz cholesterolu frakcji HDL. Genotyp $PONI -108C > T$ nie okazał się czynnikiem o znaczącym wpływie na wiek operowanych chorych, natomiast obserwowano, że w grupach sklasyfikowanych względem obecności allele $-108T$ siła oddziaływań czynników ryzyka różniła się.

U chorych z AAA obserwowano, że siła oddziaływań palenia tytoniu oraz stężenia triglicerydów jest większa u osób z genotypem $-108CC$, niż u nosicieli allele $-108T$ (tab. III). W przypadku palenia tytoniu współczynnik korelacji z wiekiem operacyjnym w zależności od genotypu wynosił $-0,279$ oraz $-0,192$, a w przypadku wartości triglicerydów odpowiednio: $-0,276$ i $-0,208$. Podobnie, w grupie AIOD, u chorych z genotypem $-108CC$ odnotowano większy negatywny wpływ palenia tytoniu (odpowiednio $r = -0,387$ i $r = -0,143$) i opóźniający rozwój AIOD wpływ cukrzycy (odpowiednio $r = 0,188$ i $r = 0,109$) niż w przypadku chorych z genotypami $CT + TT$. Zmiany w zakresie wpływu wartości cholesterolu całkowitego były w tej grupie mniej zaznaczone, ale ich oddziaływania z wartościami wieku operacyjnego były również silniejsze w przypadku homozygot $-108CC$ niż u nosicieli allele $-108T$ (odpowiednio $r = -0,308$ i $r = -0,287$).

Wartości triglicerydów u chorych z AIOD, przeciwnie niż u osób z AAA, silniej oddziaływały w przypadku

Table IV. The independent factors influencing the age of abdominal aortic aneurysm (AAA) surgical repair (log-transformed; ln-age) selected by stepwise regression analysis

Tabela IV. Czynniki niezależnie powiązane z wiekiem operowanych chorych z tętniakiem aorty brzusznej (AAA) (transformowanym logarytmicznie; ln-wiek) wytypowane metodą regresji krokowej

Parameter* Parametr*	In-age of operated patients with AAA In-wiek operacyjny chorych na AAA								
	All subject Cała grupa			PONI-108CC subjects Chorzy z genotypem PONI-108CC			PONI-108CT+TT subjects Chorzy z genotypem PONI-108CT+TT		
	β	R ²	p	β	R ²	p	β	R ²	p
TG	-0.244	0.056	< 0.0001	-0.276	0.088	0.02	-0.216	0.040	0.002
Smoking Palenie	-0.240	0.057	< 0.0001	-0.274	0.075	0.02	-0.198	0.039	0.004
Constant Stała regresji			< 0.0001			< 0.0001			< 0.0001
Adjusted R ² Skorygowane R ²		0.108; < 0.0001			0.138; < 0.002			0.070; < 0.0003	

*stepwise regression analysis includes: gender, hypertension, smoking (non smokers/past smokers/current smokers), diabetes, BMI in both groups of patients and HDLC, LDLC, TG in AAA or TC in AIOD [W analizie metodą regresji krokowej w obu grupach chorych uwzględniono: płeć, nadciśnienie, palenie (niepalący/byli palacze/palący), cukrzycę, cholesterol frakcji HDL i LDL i triglicerydy w przypadku AAA i cholesterol całkowity w przypadku AIOD]; β – regression coefficient (współczynnik regresji); R² – coefficient of determination (współczynnik determinacji); TG – triglicerides (triglicerydy)

Table V. The independent factors influencing the age of aortoiliac occlusive disease (AIOD) surgical repair (log-transformed; ln-age) selected by stepwise regression analysis**Tabela V.** Czynniki niezależnie powiązane z wiekiem operowanych chorych z miażdżycą aortalno-biodrową (AIOD) (transformowanym logarytmicznie; ln-wiek) wytypowane metodą regresji krokowej

Parameter* Parametr*	In-age of operated patients with AIOD In-wiek operacyjny chorych na AIOD								
	All subject Cała grupa			PON1-108CC subjects Chorzy z genotypem PON1-108CC			PON1-108CT+TT subjects Chorzy z genotypem PON-108CT+TT		
	β	R ²	p	β	R ²	p	β	R ²	p
TC	-0.253	0.086	< 0.0001	-0.307	0.090	0.01	-0.274	0.085	0.0006
Smoking Palenie	-0.154	0.025	0.01	-0.350	0.133	0.005	-0.095	0.009	0.2
Diabetes Cukrzyca	0.146	0.021	0.02	0.241	0.058	0.05			
Constant Stała regresji			< 0.0001			< 0.0001			< 0.0001
Adjusted R ² Skorygowane R ²		0.120; < 0.0001			0.238; < 0.002			0.082; < 0.0003	

*stepwise regression analysis includes: gender, hypertension, smoking (non smokers/past smokers/current smokers), diabetes, BMI in both groups of patients and HDLC, LDLC, TG in AAA or TC in AIOD [W analizie metodą regresji krokowej w obu grupach chorych uwzględniono: płeć, nadciśnienie, palenie (niepalący/byli palacze/palący), cukrzycę, BMI oraz cholesterol frakcji HDL i LDL i triglicerydy w przypadku AAA i cholesterol całkowity w przypadku AIOD]; β — regression coefficient (współczynnik regresji); R² — coefficient of determination (współczynnik determinacji); TC — total cholesterol (cholesterol całkowity)

overall variance in the age of surgical repair in this group (adjusted effect for these factors was 11%). It was confirmed that the magnitude of associations between these factors and age was higher in patients with -108CC genotype, explaining 14% of the overall variance in the age of surgical repair in this group. In subjects with CT+TT genotypes these factors explained 7% of the respective variance.

TC values, smoking, and diabetes were found to be independent predictors for the age of AIOD surgical repair (relative contributions of 8.6%, 2.5% and 2.1%, respectively) (Table V). The adjusted effect for these factors explained 12% of the overall variance in the age of AIOD surgical repair. As in AAA, here the effect of independent factors was stronger in -108CC patients, contributing, in combination, to 23.8% of variance in the age of surgical repair. In -108T allele carriers, diabetes was not an independent factor regarding the age of AIOD surgical repair, and the adjusted effect of the remaining factors explained only 8.2% of the age variance.

Discussion

The aetiology and pathogenesis of both AAA and AIOD are determined by multiple factors. The main risk factors are age, male sex, smoking, hypertension, and low HDLC values. Compared to CAD, diabetes

obecności allele -108T. Również wpływ wartości odsetka cholesterolu frakcji HDL oraz wartości stosunku stężeń cholesterolu frakcji HDL i LDL oraz cholesterolu całkowitego i frakcji HDL na wiek chorych operowanych z powodu AIOD wyraźnie silniej wiązał się z występowaniem genotypów -108CT + TT.

Czynniki niezależnie powiązane z wiekiem operowanych chorych z AAA i AIOD

W omawianym badaniu palenie tytoniu i wartości triglicerydów okazały się niezależnie powiązane z wiekiem chorych operowanych z powodu AAA (tab. IV). Każdy z tych czynników warunkował około 6% zmienności wieku badanych chorych (łącznie 11%). Potwierdzono, że czynniki te z większą siłą oddziałują w grupie chorych z genotypem -108CC, warunkując łącznie blisko 14% zmienności w wieku operacyjnym, niż w przypadku osób z genotypem -108CT lub TT, u których wpływały na 7% zmienności wieku.

W grupie chorych z AIOD niezależny związek z wiekiem wykazano dla stężenia cholesterolu całkowitego, palenia tytoniu i cukrzycy, których wpływ na wartości wieku operowanych chorych wynosił odpowiednio: 8,6%, 2,5% i 2,1% (łącznie 12,0%) (tab. V). Czynniki te, podobnie jak u chorych z AAA, silniej oddziaływały na wartości wieku u chorych z genotypem -108CC, warunkując łącznie 23,8% zmienności

and increased BMI have less impact on the risk of the studied diseases [17]. The familial occurrence of the studied aorta diseases and the interethnic differences in the frequency indicate the importance of the genetic factors in their development [18–20].

The results of the assessment of the effect of the known risk factors of vascular diseases in the groups of 330 AAA patients and 250 AIOD patients agree with the characteristics described for patients from other Caucasian populations. A prevalence of males, smokers, and persons with arterial hypertension was noted among the patients. The age of surgical repair occurred roughly 8 years later in AAA as compared to AIOD ($p < 0.0001$) (Table I). The age parameters of the studied groups of patients fitted with the consensus that the age at which the atherosclerotic changes in aorta develop in most cases precedes that of the symptoms of AAA, which rarely occur before the age of 50 [2].

In the AAA occurrence, a 5.7-fold male prevalence over females was noted in the range of age of the patients studied (49–94 years), in agreement with the 6-fold ratio noted in the ultrasonographic screening population studies [17, 21]. In the studied group of AIOD patients, in the range of age of the patients studied (43–80 years old), a 3-fold male prevalence over females was noted, a significantly different proportion from that noted in the AAA group ($p = 0.003$).

The low frequency of AAA in females is presumably related to the action of oestrogens. In the rat model of AAA induced by the injections of elastase, estradiol suppressed the development of AAA in males, and the female aortas transplanted to males were not resistant to the elastase treatment in males. The authors suggest that the oestrogens may decrease activity of metalloproteinase 9 in macrophages [22]. Most of the identified risk factors for the development of AAA are relevant to the disease in both sexes [23], which also indicates a protective function of estrogens.

The occurrence and the intensity of the potential modifiable vascular risk factors, such as hypertension, diabetes, and most of the parameters of lipid profiles, were similar in AAA and AIOD patients. The only risk factor which was more important in AAA was BMI index. In AAA patients the mean values of body mass index (BMI) were above the normal (26.5 kg/m^2), whereas in AIOD patients the BMI values were within the high range of normal values (24.5 kg/m^2 , $p < 0.0001$). The other risk factors (smoking and TG levels) were more frequent in the group of AIOD patients, compared to the AAA patients (88.8% and 78.2%; $p < 0.0001$ and 1.87 mmol/L and 1.71 mmol/L ; $p = 0.04$, respecti-

wieku, niż u nosicieli allele *-108T*, u których nie stwierdzono niezależnego wpływu cukrzycy, a łączny wpływ stężenia cholesterolu całkowitego i palenia tytoniu wynosił 8,2%.

Omówienie

Etiologia i patogeneza AAA i AIOD są uwarunkowane przez wiele czynników. Jako główne wymienia się wiek, płeć męską, palenie tytoniu, nadciśnienie tętnicze i obniżone stężenie HDL. W porównaniu z innymi chorobami naczyń, jak na przykład chorobą wieńcową (CAD), mniejszą rolę w ich patogenezie odgrywiają cukrzyca i wartości współczynnika BMI [17]. Rodzinne występowanie chorób aorty, a także etniczne różnice pod względem zapadalności wskazują na istotną rolę czynników genetycznych w ich patogenezie [18–20].

Wyniki oceny uznanych czynników ryzyka chorób naczyń w grupach 330 chorych z AAA i 250 chorych z AIOD odpowiadają obserwacjom klinicznym dokonywanym w innych populacjach kaukaskich. W badanych grupach chorych przeważali mężczyźni, osoby palące i pacjenci z nadciśnieniem tętniczym. Konieczność leczenia operacyjnego chorych na AAA następowała średnio o 8 lat później niż pacjentów z AIOD ($p < 0,0001$; tab. I). Charakterystyka parametrów wiekowych w ocenionej populacji chorych była zgodna z obserwacjami przebiegu chorób tętnic, które wskazują, że wiek wystąpienia pierwszych objawów miażdżycy jest na ogół niższy od wieku ujawniania się tętniaków aorty brzusznej, rzadko spotykanych przed 50 rokiem życia [2].

W obserwowanej grupie o szerokim przedziale wiekowym (49–94 lat) AAA występował około 5,7-krotnie częściej u mężczyzn niż u kobiet, co odpowiada wynikom przesiewowych badań ultrasonograficznych, w których obecność tętniaka stwierdza się około 6-krotnie częściej u mężczyzn [17, 21]. W przypadku badanych chorych z AIOD (przedział wieku 43–80 lat) częstość zachorowań u mężczyzn była 3-krotnie wyższa niż u kobiet, a proporcje płci w tej grupie znacząco odbiegały od proporcji stwierdzonych u chorych z AAA ($p = 0,003$).

Prawdopodobny wydaje się udział estrogenów w warunkowaniu oporności na AAA u kobiet. W badaniu przeprowadzonym na szczurach, w którym tętniaki indukowano podawaniem elastazy, stwierdzono, że aorty samic przeszczepione samcom tracą oporność na rozwój AAA. Z kolei podawanie estradiolu samcom hamowało rozwój tętniaka indukowanego podaniem elastazy. Autorzy pracy sugerują, że estrogeny mogą pośredniczyć w hamowaniu aktywności metaloproteinazy 9 wytwarzanej przez makrofagi [22]. Również fakt, że większość spośród zidentyfikowanych czynników

vely). Smoking represents the best characterized risk factor of atherosclerosis [24] and of abdominal aortic aneurysms [25, 26]. The risk related to smoking also extends to past smokers [23, 26, 27].

The lower age of surgical repair in both groups of patients significantly associated with smoking and high values of TC, LDLC, TG, and TC/HDL. The opposite effect was seen with the high values of %HDL (also high values of HDL/LDL index in the case of AIOD), which significantly associated with delayed development of aortal diseases (Table II). It is worth noting that significant associations between HDL fraction and the age of operated patients were found only for the parameters describing this fraction in relation to either LDLC or TC.

Relatively high values of BMI were found in AAA subjects and in these patients this factor was significantly associated with earlier progression of the disease, whereas in AIOD the values of BMI did not differ from normal and were not associated with the progression of the disease. In AIOD the presence of diabetes was related to the delayed progression of aortal disease. In the group of AAA patients the frequency of diabetes was similar to that in the AIOD group, but in this case the comorbidity did not change the age of surgical repair (Table II). The delayed progression of aneurysms in AAA patients with diabetes was reported by Gooledge et al. [28]. According to these authors, the glycosylation of the collagen type I fibrils in diabetes may suppress the inflammatory processes effective in the aneurysm progression, such as the activation of enzymes (metalloproteinase 9) and cytokines (interleukin 6). The results of the presented study suggest that this mechanism may also be true for AIOD progression in diabetics.

In the presented study hypertension did not associate with the age of AAA or AIOD surgical repair. However, this risk factor occurred at a high frequency in both groups of patients (Table I). Because of the age of patients it may be presumed that the isolated systolic type of hypertension prevails in the studied groups. This type of hypertension progresses with age and the advancement of atherosclerotic changes in the arteries. Progression of the isolated systolic type of hypertension results in a rise in pulse pressure, so it seems probable that hypertension may have a stronger influence on the progression of AAA and AIOD in the older subgroups of patients. The association between hypertension and AAA progression was found by Lindholt et al. [29]. In a prospective study of a group of 117 patients, hypertension therapy with beta-blockers was negatively correlated with the yearly increase in the aneu-

ryzka AAA jest wspólna dla kobiet i mężczyzn wskazuje na rolę estrogenów w warunkowaniu oporności na tętniaki [23].

Obserwowano znaczne podobieństwo chorych z AAA i AIOD pod względem występowania i nasilenia modyfikowalnych czynników ryzyka chorób naczyń. W obu grupach chorych nadciśnienie tętnicze i cukrzyca występowały z podobną częstością. Nie stwierdzono również różnic w zakresie większości parametrów profilu lipidowych. Jedynym czynnikiem ryzyka o wyższym nasileniu u chorych z AAA okazały się wartości wskaźnika BMI, które w tej grupie przekraczały wartości prawidłowe ($26,5 \text{ kg/m}^2$), podczas gdy u chorych z AIOD były zbliżone do górnej granicy normy ($24,5 \text{ kg/m}^2$, $p < 0,0001$). Częstość palenia tytoniu oraz stężenie triglicerydów stanowiły czynniki ryzyka o większym nasileniu u chorych z AIOD niż u pacjentów z AAA (odpowiednio 88,8% i 78,2%; $p < 0,0001$ oraz $1,87 \text{ mmol/L}$ i $1,71 \text{ mmol/L}$; $p = 0,04$). Spośród ocenionych czynników modyfikowalnych palenie tytoniu stanowi najlepiej udokumentowany czynnik ryzyka miażdżycy aorty i tętnic kończyn dolnych [24] oraz tętniaków [25, 26], przy czym stwierdza się, że wzrost ryzyka dotyczy zarówno osób aktualnie palących, jak i byłych palaczy [23, 26, 27].

W ocenianych grupach niższy wiek operowanych chorych istotnie wiązał się z paleniem tytoniu, wysokim stężeniem cholesterolu całkowitego, frakcji LDL i triglicerydów oraz wysoką wartością stosunku stężeń cholesterolu całkowitego i frakcji HDL, natomiast wysoki odsetek cholesterolu frakcji HDL (w przypadku AIOD również wysokie wartości stosunku stężeń cholesterolu frakcji HDL i LDL) wykazywał właściwości ochronne przed wczesnym rozwojem chorób aorty (tab. II). Wydaje się interesujące, że w badanych grupach nie wykazano związku między wiekiem chorych a stężeniem cholesterolu frakcji HDL, natomiast istotne okazały się parametry określające proporcję tej frakcji cholesterolu względem stężenia cholesterolu całkowitego i frakcji LDL.

Wartości wskaźnika BMI, relatywnie wysokie w grupie AAA, istotnie wiązały się z przyspieszoną progresją tętniaka, nie wykazując asocjacji z wiekiem chorych na AIOD. W przypadku AIOD wykazano dodatni związek między wiekiem operowanych chorych a występowaniem cukrzycy. Częstość występowania cukrzycy u chorych z AAA była zbliżona do obserwowanej u osób z AIOD, jednak nie stwierdzono związku między występowaniem cukrzycy a progresją tętniaka. Wyniki niektórych badań w grupach chorych z AAA wskazują na wolniejsze tempo wzrostu tętniaków u osób z cukrzycą [28]. Podłożem ochronnego oddziaływania podwyższo-

rysm diameter; however, after adjustment of the other significant variables this factor was not independently associated with aneurysmal expansion.

The strongest associations with the age of surgical repair among the plasma lipid parameters were found for AAA to TG ($r = -0.228$; $p < 0.0001$), and for AIOD to TC ($r = -0.289$; $p < 0.0001$). The increased values of these lipid fractions and smoking were the only risk factors which were independently associated with the lower age of surgical repair in AAA and AIOD patients (Table IV). It was also confirmed that diabetes was an important factor negatively correlated with AIOD progression. Smoking and TG levels explained 11% of the variation in age of surgical repair in AAA patients, while smoking, TC levels, and diabetes explained 12% of the variation in age of surgical repair in AIOD patients.

Lindholt et al. [29] also assessed the relations between the rate of AAA progression and smoking and TG levels, but they found an independent association only for the effects of smoking. Smoking has also been found to be the principal risk factor for the progression of AIOD following a 4–5-year observation in a Canadian study [30].

In the present study, a direct association between the *PON1-108C>T* genotypes and the progression of the studied diseases was not found. The frequency of *PON1-108T* alleles and genotypes was similar in the AAA and AIOD groups (the frequency of *-108T* allele in studied groups was 0.479 and 0.462, respectively; Table I). However, it was shown that the associations between the risk factors and age of AAA and AIOD surgical repair were dependent on the *PON1-108C>T* genotypes (Table III).

The influence of the risk factors independently associated with the age of surgical repair were found to be greater both in the AAA and AIOD groups in patients with *PON1-108CC* genotype than in those with *-108T* allele carriers (Table IV). The *PON1* genotype dependent differences in the magnitude of the influence on the variations in age related to factors negatively associated with the disease progression were similar for smoking: 3.6% in the AAA group and 3.8% in the AIOD group. The effect of *PON1-108* genotype on the association between the age of AAA surgical repair and TG level was also relatively high (4.8%), whereas its effect on the association between the age of AIOD surgical repair and TC level was only 0.5%. In AIOD, a greater effect of *PON1-108* genotype was noted on the association between diabetes and age. This factor influenced the age of AIOD surgical repair only in subjects with *-108CC* genotype.

The *PON1-108* genotypes did not differ significantly in the profiles of the lipids and lipoprotein fractions

nych stężeń glukozy jest prawdopodobnie hamowanie takich procesów zapalnych zaangażowanych w progresję tętniaków, jak wydzielanie metaloproteinaz trawiących składniki macierzy międzykomórkowej oraz cytokin prozapalnych (interleukiny 6), przy udziale glikozylowanych włókien kolagenu typu I. Na podstawie wyników badań zaprezentowanych w niniejszej pracy można wnioskować, iż podobny mechanizm występuje również u badanych chorych na AIOD i cukrzycę.

W niniejszej pracy nie wykazano związku między nadciśnieniem tętniczym a wiekiem operowanych chorych. W związku z zaawansowanym wiekiem badanych osób obserwowany w obu grupach wysoki odsetek chorych na nadciśnienie (tab. I) wynika prawdopodobnie z dużego udziału osób z nadciśnieniem typu izolowanego skurczowego. Ta postać nadciśnienia pogłębia się z wiekiem i postępem zmian miażdżycowych w tętnicach. Progresa nadciśnienia postaci izolowanej skurczowej prowadzi do wzrostu ciśnienia tętna, stąd można oczekiwać, że znaczenie nadciśnienia dla progresji AAA i AIOD będzie większe w podgrupach starszych wiekowo. Związek między występowaniem nadciśnienia a progresją AAA wykazali Lindholt i wsp., którzy w prospektywnej ocenie 117 chorych obserwowali ujemną korelację między stosowaniem leków obniżających ciśnienie (leków β -adrenolitycznych) a rocznym wzrostem tętniaka, jednak badany parametr po uwzględnieniu oddziaływań innych czynników ryzyka nie okazał się niezależnie powiązany z progresją AAA [29].

Spośród badanych parametrów gospodarki lipidowej najsilniejszy związek z wiekiem operowanych chorych z AAA wykazano dla wartości triglicerydów ($r = -0,228$; $p < 0,0001$), a w przypadku AIOD dla wartości cholesterolu całkowitego ($r = -0,289$; $p < 0,0001$). Podwyższone stężenie tych frakcji lipidowych oraz palenie tytoniu okazały się jedynymi czynnikami niezależnie powiązanymi z młodszym wiekiem u chorych z AAA i AIOD (tab. IV). Istotny związek z wolniejszym postępem AIOD potwierdzono również w przypadku cukrzycy. Palenie tytoniu i wartości triglicerydów warunkowały łącznie 11% zmienności wieku chorych z AAA, a wartości cholesterolu całkowitego, palenie tytoniu i cukrzyca odpowiadały za 12,0% zmienności wieku osób operowanych z powodu AIOD.

Lindholt i wsp. również wykazali zależność między paleniem tytoniu i podwyższonym stężeniem triglicerydów a przyspieszonym rozwojem AAA, przy czym niezależne oddziaływania na tempo progresji stwierdzili tylko w przypadku palenia tytoniu [29]. Palenie tytoniu okazało się również głównym czynnikiem ryzyka przyspieszonej progresji AIOD po 4- i 5-letniej obserwacji chorych w badaniu przeprowadzonym w Kanadzie [30].

in the plasma of either AAA or AIOD patients (data not presented), which may be interpreted to mean that the effect of *PON1*-108 genotypes on the age of surgical repair is mediated through the modification of the level of *PON1* gene expression, which determines the concentration of protein in plasma. Genetic variation of the *PON1* gene, mainly in the -108C>T, L55M, and Q192R SNPs, represents a significant component in the determination of the activity of paraoxonase I and individual susceptibility to vascular diseases. Metaanalyses concentrating on CAD risk confirmed the effect of the 192R allele [31]. The effects of *PON1*-108T and 55M alleles were, however, noted in the AAA group [32, 33].

Numerous studies [34–36], including some prospective [37], point to the importance of the decreased activity of paraoxonase I for the development of vascular diseases. It is postulated that these relations integrate both the genetic and the environmentally induced variations in paraoxonase activity, which may be described as the “*PON1* status” [34, 36]. Apart from the genotypes influencing the expression and activity of protein, modifying factors such as age, smoking, plasma lipoproteins, and lipids, and coexisting diseases such as diabetes should be considered [38].

It may be expected that in persons with -108 CT+TT genotypes the lower level of paraoxonase I in plasma may contribute to the earlier development of the studied diseases of the aorta, whereas the effects of the remaining studied risk factors on the clinical outcome in these patients are decreased. The level of paraoxonase I may be even more important in patients with AIOD, since in this group of patients the delay in development of the disease is associated with the high values of %HDL and HDL/LDL indexes and the low values of TC/HDL indexes (Table III) only in the carriers of *PON1*-108T allele. In persons with *PON1*-108CC genotype and high levels of paraoxonase expression, the decrease of paraoxonase activity in plasma may be due to such risk factors as smoking.

It has been demonstrated in *in vitro* studies that statins increase the expression of paraoxonase I and that this effect is stronger for *PON1*-108C promoter allele [14]. In subjects with hypercholesterolaemia, therapy with statins (simvastatin) increases paraoxonase I activity in plasma in persons with the *PON1*-108CC genotype, whereas in persons with *PON1*-108TT genotype, the same treatment does not increase the paraoxonase I activity.

The use of statins in AIOD apparently did not delay the progression of atherosclerosis (lovastatin, graded dosing) [30]. In addition, high dose atorvastatin

W niniejszym badaniu nie zaobserwowano, aby genotyp *PON1*-108C > T wiązał się bezpośrednio z szybszą progresją badanych chorób tętnic. Stwierdzone częstości alleli i genotypów okazały się zbliżone w badanych grupach chorych z AAA i AIOD (częstość występowania allele -108T w badanych grupach wynosiła odpowiednio: 0,462 i 0,479; tab. I). Obserwowano natomiast, że siła oddziaływań czynników wykazujących asocjacje z wiekiem operacyjnym chorych różni się w zależności od genotypu *PON1*-108C>T (tab. III).

Wpływ czynników niezależnie związanych z wiekiem chorych, zarówno w przypadku AAA, jak i AIOD, był silniej wyrażony u osób z genotypem -108CC niż u nosicieli allele -108T (tab. IV). Zależne od genotypu *PON1* różnice w oddziaływaniu czynników powiązanych z niższym wiekiem operowanych chorych były zbliżone w odniesieniu do wpływu palenia tytoniu i wynosiły 3,6% w przypadku AAA oraz 3,8% w przypadku AIOD. Podobną wartość stwierdzono w przypadku różnic w oddziaływaniu triglicerydów na wiek chorych z AAA (4,8%). Natomiast wpływ genotypu *PON1* na siłę oddziaływania stężeń cholesterolu całkowitego na wiek chorych operowanych z powodu AIOD okazała się niewielka (0,5%). Większy efekt oddziaływania tego genotypu w przypadku AIOD obserwowano w odniesieniu do cukrzycy, która istotnie wiązała się z późniejszym wiekiem leczenia operacyjnego wyłącznie u osób z genotypem -108CC.

Nie stwierdzono, aby obecność allele *PON1*-108T w istotny sposób oddziaływała na wartości frakcji lipidów i lipoprotein osocza u chorych z AAA lub AIOD (dane nieprezentowane), co potwierdza, że wykazane efekty wiążą się z poziomem ekspresji genu *PON1*, który determinuje zawartość białka w osoczu. Polimorfizmy typu SNP genu *PON1*: -108C>T, L55M i Q192R warunkują znaczącą część indywidualnych różnic w aktywności kodowanego enzymu i oddziałują na podatność do rozwoju chorób naczyń. Metaanalizy dotyczące znaczenia tych polimorfizmów w warunkowaniu CAD potwierdziły oddziaływanie allele 192R na tę podatność [31]. Ostatnie wyniki badań asocjacji polimorfizmów *PON1* z występowaniem AAA wykazały, że związek taki występuje w przypadku alleli -108T i 55M [32, 33].

W licznych badaniach [34–36], w tym prospektywnych [37], wykazano, że obniżona aktywność paraoksonazy I istotnie przyczynia się do rozwoju chorób układu krążenia. Uważa się, że w ocenie znaczenia paraoksonazy I dla rozwoju chorób naczyń należy uwzględnić łączną ocenę aktywności i genotypu *PON1* określanych jako „status *PON1*” [34, 36]. Poza czynnikami genetycznymi warunkującymi poziom ekspresji

for 6 months did not give any improvement in peripheral arterial disease [39]. In AAA observations, delayed progression of the disease following treatment with statins was reported [40]. The improvement of the results of statin treatment reported by other authors may be expected both in AAA and in AIOD patients, provided that the *PONI-108* genotype-related differences in the effects of the main risk factors on the susceptibility to disease, as presented here, are taken into consideration.

Conclusions

1. Smoking and impaired lipid profile are major factors regarding the age of the operated patients. Hence it may be presumed that smoking cessation and normalization of lipid profile may delay disease progression both in AAA and in AIOD.
2. Determination of *PONI-108C>T* genotypes allows the identification of the subgroup of patients in which the higher rates of AAA or AIOD progression are associated with the presence of the mentioned risk factors.
3. In persons not affected by the mentioned risk factors, in particular in AIOD patients, the *PONI-108CT* and *TT* genotypes associated with the lower levels of paraoxonase I may increase the rate of aorta disease progression.
4. The indexes presenting the HDLC concentration as a fraction in relation either to TC or LDLC (%HDLC, TC/HDLC, HDLC/LDL) represent a better marker for the prognosis of disease progression both in AAA and in AIOD, compared to the raw HDLC concentration values.

References

1. McGregor J, Pollock J, and Anton H (1975) The value of ultrasonography in the diagnosis of abdominal aortic aneurysm. *Scott Med J*, 20: 133–137.
2. Singh K, Bona KH, Jacobsen BK et al (2001) Prevalence of and risk factors for abdominal aortic aneurysms in a population-based study: The Tromso Study. *Am J Epidemiol*, 154: 236–244.
3. Leriche R (1940) De la résection du carrefour aortico-iliaque avec double sympathectomie lombaire pour thrombose artérielle de l'aorte: le syndrome de l'oblitération termino-aortique par artérite. *La presse médicale*, 48: 601–607.
4. Lusis AJ, Fogelman AM, Fonarow GC (2004) Genetic basis of atherosclerosis: Part I: New genes and pathways. *Circulation*, 110: 1868–1873.
5. Thompson A, Drenos F, Hafez H et al (2008) Candidate gene association studies in abdominal aortic aneurysm disease: a review and meta-analysis. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 35: 19–30.
6. Wanhainen A, Bergqvist D, Boman K et al (2005) Risk fac-

i aktywności białka istotne jest, aby ocenić rolę czynników modyfikujących, takich jak wiek, palenie tytoniu i wartości frakcji lipidowych oraz choroby współistniejące, jak cukrzyca, które również wpływają na status *PONI* [38].

Można oczekiwać, że u osób z genotypem *-108CT* i *TT* genetycznie obniżone stężenie paraoksonazy I w osoczu może przyczynić się do wcześniejszego rozwoju chorób aorty, stąd wpływ innych czynników ryzyka na progresję jest mniejszy. Znaczenie stężenia tego enzymu w osoczu może być większe w przypadku AIOD, na co wskazuje fakt, że ochronny wpływ wysokiego odsetka cholesterolu frakcji HDL i wartości stosunku stężenia cholesterolu frakcji HDL i LDL oraz niższych wartości stosunku stężeń cholesterolu całkowitego do frakcji HDL, wyrażające się wyższym wiekiem operacyjnym stwierdzono wyłącznie w przypadku AIOD u nosicieli allele *PONI-108T* (tab. III). W przypadku osób z genotypem *-108CC*, cechujących się wysokim poziomem ekspresji genu *PONI*, obniżenie stężenia paraoksonazy I może być spowodowane obecnością takich czynników, jak palenie tytoniu.

W badaniach *in vitro* wykazano, że statyny zwiększają ekspresję paraoksonazy I, przy czym efekt ten jest znacznie silniejszy w przypadku występowania allele *-108C* w sekwencji promotora genu *PONI* [14]. Stosowanie simwastatyny u chorych z hipercholesterolemią przyczyniało się do znaczącego wzrostu aktywności i stężenia enzymu w osoczu u osób z genotypem *-108CC*, podczas gdy zmian takich nie obserwowano u homozygot *-108TT*.

W badaniach dotyczących wpływu statyn (zróżnicowanych dawek lowastatyny) na opóźnienie progresji zmian miażdżycowych w aorcie u chorych z AIOD nie uzyskano pozytywnego wyniku [30]. Również w przypadku stosowania w okresie 6 miesięcy dużych dawek atorwastatyny u chorych na miażdżycę tętnic obwodowych nie obserwowano oczekiwanego efektu hamowania progresji miażdżycy [39]. Pozytywny efekt leczenia statynami wykazano natomiast w odniesieniu do hamowania progresji AAA [40]. Skuteczność leczenia statynami chorych z AAA i AIOD uzyskana w wymienionych badaniach można poprawić po uwzględnieniu wniosków wynikających z niniejszej analizy asocjacji pomiędzy genotypem *PONI-108* a wrażliwością badanych chorych na oddziaływanie czynników ryzyka chorób naczyń.

Wnioski

1. Palenie tytoniu i zaburzenia gospodarki lipidowej są czynnikami o przeważającym wpływie na wiek leczenia operacyjnego u chorych z AAA i AIOD. Zaprzestanie palenia oraz normalizacja stężenia lipi-

- tors associated with abdominal aortic aneurysm: a population-based study with historical and current data. *J Vasc Surg*, 41: 390–396.
7. Mackness, B. Mackness MI, Arrol S et al (1998) Effect of the human serum paraoxonase 55 and 192 genetic polymorphisms on the protection by high density lipoprotein against low density lipoprotein oxidative modification. *FEBS Lett*, 423: 57–60.
 8. Draganov D, La Du B (2004) Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 369: 78–88.
 9. Jakubowski H (2000) Calcium-dependent human serum homocysteine thiolactone hydrolase. A protective mechanism against protein N-homocysteinylation. *J Biol Chem*, 275: 3957–3962.
 10. Teiber JF, Billecke S, La Du BN et al (2007) Estrogen esters as substrates for human paraoxonases. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 461: 24–29.
 11. Draganov DI, Teiber JF, Speelman A, et al (2005) Human paraoxonases (PON1, PON2, and PON3) are lactonases with overlapping and distinct substrate specificities. *J Lipid Res*, 46: 1239–1247.
 12. Humbert R, Adler DA, Distechi CM et al (1993) The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nat Genet*, 3: 73–76.
 13. Osaki F, Ikeda Y, Suehiro T et al (2004) Roles of Sp1 and protein kinase C in regulation of human serum paraoxonase I (PON1) gene transcription in HepG2 cells. *Atherosclerosis*, 176: 279–287.
 14. Deakin S, Guernier S, James R (2007) Pharmacogenetic interaction between paraoxonase-I gene promoter polymorphism C-107T and statin. *Pharmacogenet Genomics*, 17: 451–457.
 15. Christidis D, Liberopoulos EN, Kakafika AI et al (2007) Effect of paraoxonase I polymorphisms on the response of lipids and lipoprotein-associated enzymes to treatment with fluvastatin. *Arch Med Res*, 38: 403–410.
 16. Brophy V, Jampsa RL, Clendenning JB, et al (2001) Effects of 5' regulatory-region polymorphisms on paraoxonase-gene (PON1) expression. *Am J Hum Genet*, 68: 1428–1436.
 17. Faxon DP, Creager MA, Smith SCJ et al (2004) Atherosclerotic Vascular Disease Conference: Executive summary: Atherosclerotic Vascular Disease Conference proceeding for healthcare professionals from a Special Writing Group of the American Heart Association. *Circulation*, 109: 2595–2604.
 18. Johnson G Jr, Avery A, McDougal EG et al (1985) Aneurysms of the abdominal aorta. Incidence in blacks and whites in North Carolina. *Arch Surg*, 120: 1138–1140.
 19. Hobbs S, Wilmsink A, Bradbury A (2003) Ethnicity and peripheral arterial disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 25: 505–512.
 20. Criqui MH, Vargas V, Denenberg JO et al (2005) Ethnicity and Peripheral Arterial Disease: The San Diego Population Study. *Circulation*, 112: 2703–2707.
 21. Sakalihasan N, Limet R, Defawe O (2005) Abdominal aortic aneurysm. *Lancet*, 365: 1577–1589.
 22. Ailawadi G, Eliason JL, Roelofs KJ et al (2004) Gender differences in experimental aortic aneurysm formation. *Arterioscler. Thromb. Vasc Biol*, 24: 2116–2122.
 23. Rodin, M.B., Daviglius ML, Wong GC et al (2003) Middle dów i lipoprotein osocza może przyczynić się do opóźnienia progresji tych chorób.
 24. Na podstawie genotypu *PON1-108C>T* można wytypować podgrupę chorych, u których szybsza progresja AAA lub AIOD silnie wiąże się ze zwiększoną wrażliwością na występowanie wyżej wymienionych czynników ryzyka.
 25. U osób, u których wymienione czynniki ryzyka nie występują, w szczególności w przypadku AIOD, genotypy *PON1-108CT* i *TT* warunkujące obniżone stężenie paraoksonazy I w osoczu mogą wpływać na przyspieszoną progresję zmian w aorcie.
 26. Wskaźniki określające stężenie cholesterolu frakcji HDL w formie indeksów względem stężenia cholesterolu całkowitego oraz frakcji LDL (jako odsetek cholesterolu frakcji HDL, proporcje stężeń TC/HDLC oraz HDLC/LDLC) mają większą wartość prognostyczną w odniesieniu do progresji AAA i AIOD niż wskaźniki stężenia cholesterolu frakcji HDL.
- *Praca finansowana w ramach projektów badawczych: KBN nr 4 P05A04512 (1999–2003); 6P05A03921 (2001–2002); 3P05A12124 (2003–2005); MNiI nr 2P05C03828 (2005–2008).
-
27. age cardiovascular risk factors and abdominal aortic aneurysm in older age. *Hypertension*, 42: 61–68.
 28. Dormandy J, Heeck L, and Vig S (1999) The natural history of claudication: risk to life and limb. *Semin Vasc Surg*, 12: 123–137.
 29. Vardulaki K, Walker NM, Day NE et al (2000) Quantifying the risks of hypertension, age, sex and smoking in patients with abdominal aortic aneurysm. *Br J Surg*, 87: 195–200.
 30. Wilmsink T, Quick C, Day N (1999) The association between cigarette smoking and abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*, 30: 1099–1105.
 31. Ness J, Aronow WS, Newkirk E et al (2005) Prevalence of symptomatic peripheral arterial disease, modifiable risk factors, and appropriate use of drugs in the treatment of peripheral arterial disease in older persons seen in a University General Medicine Clinic. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 60: 255–257.
 32. Golledge J, Karan M, Moran CS et al (2008) Reduced expansion rate of abdominal aortic aneurysms in patients with diabetes may be related to aberrant monocyte-matrix interactions. *Eur Heart J*, 29: 665–672.
 33. Lindholt J, Heegaard NH, Vammen S et al (2001) Smoking, but not lipids, lipoprotein(a) and antibodies against oxidised LDL, is correlated to the expansion of abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 21: 51–56.
 34. Campeau L, Lesperance J, Bilodeau L et al (2005) Effect of cholesterol lowering and cardiovascular risk factors on the progression of aortoiliac arteriosclerosis: A Quantitative Cineangiography Study. *Angiology*, 56: 191–199.

31. Wheeler J, Keavney BD, Watkins H et al (2004) Four paraoxonase gene polymorphisms in 11212 cases of coronary heart disease and 12786 controls: meta-analysis of 43 studies. *Lancet*, 363: 689–695.
32. Strauss E, Waliszewski K, Pawlak A (2005) The different genotypes of MTHFR 1298A>C and PON1-108C>T polymorphisms confer the increased risk of the abdominal aortic aneurysm in the smoking and nonsmoking persons. *Przegl Lek*, 62: 1023–1030.
33. Giusti B, Saracini C, Bolli P et al (2008) Genetic analysis of 56 polymorphisms in 17 genes involved in methionine metabolism in patients with abdominal aortic aneurysm. *J Med Genet*, 45: 721–730.
34. Jarvik GP, Rozek LS, Brophy VH et al (2000) Paraoxonase (PON1) phenotype is a better predictor of vascular disease than is PON1 I92 or PON155 genotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20: 2441–2447.
35. Mackness B, Davies GK, Turkie W et al (2001) Paraoxonase status in coronary heart disease: Are activity and concentration more important than genotype? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 21: 1451–1457.
36. Brophy V, Jarvik GP, Richter RJ et al (2000) Analysis of paraoxonase (PON1) L55M status requires both genotype and phenotype. *Pharmacogenetics*, 10: 453–460.
37. Robertson K, Hawe E, Miller GJ et al (2003) Human paraoxonase gene cluster polymorphisms as predictors of coronary heart disease risk in the prospective Northwick Park Heart Study II. *Biochim Biophys Acta*, 1639: 203–312.
38. James RW, Leviev I, Righetti A (2000) Smoking is associated with reduced serum paraoxonase activity and concentration in patients with coronary artery disease. *Circulation*, 101: 2252–2257.
39. Spring S, Simon R, van der Loo B et al (2008) High-dose atorvastatin in peripheral arterial disease (PAD): effect on endothelial function, intima-media-thickness and local progression of PAD. An open randomized controlled pilot trial. *Thromb Haemost*, 99: 182–189.
40. Baxter BT, Terrin MC, Dalman RL (2008) Medical management of small abdominal aortic aneurysms. *Circulation*, 117: 1883–1889.