

# Wpływ wybranych czynników genetycznych na wczesne powikłania nadciśnienia tętniczego

## Influence of genetic factors on early hypertensive complications

### Summary

Hypertension is the most prevalent risk factor for cardiovascular disease (CVD), the leading cause of death worldwide, especially in developed countries. Genetic and environmental determinants play important roles in hypertension and its complications. This publication gives a short introduction to the pathogenesis of CVD and summarizes the current findings of the genetic factors involved. This review focuses on a better understanding of the role of candidate genes polymorphisms that play a crucial role in blood pressure regulation, hemostatic processes, oxidative stress and inflammatory responses leading to endothelial damage, and as a result, to vascular remodeling and microalbuminuria. Those gene variants could contribute to inter-individual differences in susceptibility to and outcome of essential hypertension. Therefore, the major challenge in cardiovascular medicine is to find a way of predicting the risk of hypertension complications by genetic markers that, used with imaging techniques, could lead to the development of new and better diagnostic and therapeutic methods.

**key words:** hypertension, gene polymorphism, genetic markers, endothelium damage, vascular remodeling, albuminuria

*Arterial Hypertension 2011, vol. 15, no 2, pages 125–142.*

Choroby układu krążenia są główną przyczyną zachorowalności, zgonów i inwalidztwa w rozwiniętych krajach świata. Nieleczone lub nieskutecznie kontrolowane nadciśnienie tętnicze prowadzi do rozwoju szeregu powikłań narządowych. Powikłania te dotyczą najczęściej układu sercowo-naczyniowego, ośrodkowego układu nerwowego i nerek (tab. I). Wyniki badania epidemiologicznego prowadzonego w populacji *Framingham* zwróciły uwagę na związek między nadciśnieniem tętniczym a ryzykiem wystąpienia udaru mózgu, choroby niedokrwiennej serca, niewydolności serca i zmian w obrębie naczyń krwionośnych [1, 2]. Zmiany w układzie sercowo-naczyniowym, jakie zachodzą podczas długotrwałego wzrostu ciśnienia tętniczego, są wynikiem interakcji czynników genetycznych, hemodynamicznych, humoralnych oraz metabolicznych. Dobrze zdefiniowano czynniki środowiskowe wpływające na chorobę układu krążenia, ale aby uzyskać pełny obraz choroby, niezwykle istotne jest poznanie i zbadanie wpływu czynników genetycznych warunkujących wystąpienie powikłań narządowych.

Zadanie to jednak komplikuje fakt, że ocena genetyczna uwarunkowań powikłań narządowych wymaga uwzględnienia w analizie takich czynników, jak: wiek, płeć, rasa, wysokość ciśnienia tętniczego, włączone leczenie, stosowana dieta czy używki [3–5]. Dlatego tak ważne w badaniach nad interakcją między genami a środowiskiem jest szczegółowe zaprojektowanie doświadczenia, obejmującego zebranie wywiadu z pacjentem, uwzględnienie klasycznych czynników ryzyka wystąpienia powikłań narządowych, wykonanie wielu badań biochemicznych i obrazowych. Takie podejście badawcze jest niezbędne w ocenie wpływu tła genetycznego i środowiskowego (oraz ich wzajemnego oddziaływania) na rozwój powikłań narządowych nadciśnienia.

Adres do korespondencji: mgr Katarzyna Polonis  
Zakład Nadciśnienia Tętniczego GUMed  
ul. Dębinki 7C, 80–952 Gdańsk  
tel.: (58) 349–25–27, faks: (58) 349–26–01  
e-mail: kpolonis@gumed.edu.pl

 Copyright © 2011 Via Medica, ISSN 1428–5851

**Tabela I.** Powikłania nadciśnienia tętniczego**Table I.** Complications of hypertension

<b>Serce</b>	Przerost lewej komory i zaburzenia funkcji rozkurczowej lewej komory Choroba niedokrwienna serca Niewydolność serca Zaburzenia rytmu serca
<b>Duże tętnice</b>	Zaburzenia czynności śródbłonna Przebudowa naczyń: — zwiększona grubość kompleksu błony wewnętrznej i środkowej (IMT) tętnicy szyjnej — zwiększona sztywność ścian — zmniejszona podatność naczyń tętnicznych Miażdżycza
<b>Mózg</b>	Mikroangiopatia mózgowa Udar mózgu
<b>Nerki</b>	Albuminuria Niewydolność nerek

Poważne rokowania powikłań sercowo-naczyniowych, zmniejszenie komfortu życia pacjenta oraz częste hospitalizacje, a zatem finansowe obciążenie społeczeństwa, zmuszają do opracowania skuteczniejszych metod profilaktyki i leczenia. Dlatego celem prowadzonych badań nad podłożem genetycznym powikłań sercowo-naczyniowych jest opracowanie programów szacujących ryzyko wystąpienia powikłania, stworzenie zindywidualizowanej profilaktyki i skutecznej terapii pacjenta z nadciśnieniem tętniczym.

Osiągnięcia biologii molekularnej w zakresie badań polimorfizmów genetycznych (definiowanych jako występowanie różnic w sekwencji DNA z częstością większą niż 1%) dały nowe spojrzenie na patofizjologię nadciśnienia tętniczego i jego powikłań. Badanie wpływu czynników genetycznych na choroby o podłożu wieloczynnikowym, do których należy nadciśnienie tętnicze i jego powikłania, jest niezwykle trudne i wymaga analizy wariantów polimorficznych szeregu genów kandydatów, które pojedynczo wywierają niewielki wpływ na daną cechę. Termin „geny kandydaci” oznacza geny, które podejrzewa się o związek z danym schorzeniem na podstawie znajomości kodowanych przez nie produktów białkowych oraz roli tych produktów w procesach fizjologicznych (tab. II) [6].

Do wczesnych powikłań nadciśnienia można zaliczyć zaburzenia czynności śródbłonna, proces przebudowy naczyń prowadzący do ich sztywnie-

nia i zmniejszenia podatności oraz mikroalbuminurię. Stwierdzenie predyspozycji genetycznej do rozwinięcia wczesnych uszkodzeń narządowych jest niezwykle istotnym czynnikiem ryzyka wystąpienia poważniejszych powikłań — zawału serca czy udaru mózgu.

W świetle dotychczasowych badań trudno jest jednoznacznie określić, które ze wczesnych zmian narządowych pojawiają się jako pierwsze — dysfunkcja śródbłonna czy przebudowa ściany naczyń tętnicznych. Nie zawsze również jest możliwe rozróżnienie następstw od przyczyn, na przykład zaburzenie funkcji śródbłonna można rozpatrywać zarówno jako przyczynę nadciśnienia tętniczego, jak i jego skutek. Obecnie jednak dominuje pogląd, że komórkowy stres oksydacyjny i przewlekły stan zapalny są wspólnie zaangażowane w patogenезę wczesnych powikłań nadciśnienia tętniczego. Wyniki badań doświadczalnych wskazują, że stres oksydacyjny i powstające w jego efekcie reaktywne formy tlenu stanowią drugorzędowy przekaźnik sygnałów zaangażowanych w regulację ekspresji genów prozapalnych i cząsteczek adhezyjnych. Zwiększona ekspresja tych genów prowadzi do nasilenia lokalnego stanu zapalnego, a w konsekwencji do zaburzeń funkcji śródbłonna. Niejednokrotnie mechanizmy zaangażowane w patofizjologię nadciśnienia tętniczego i jego powikłań przyjmują postać tak zwanego błędnego koła, pogłębiając patologiczne zmiany i prowadząc do kolejnych powikłań (ryc. 1).

**Tabela II.** Lista opisanych w pracy genów kandydatów i ich wariantów polimorficznych z uwzględnieniem kodu polimorfizmu (rs) w bazie dbSNP (NCBI) oraz wpływu na sekwencję białka**Table II.** List of candidate genes and their polymorphisms mentioned in this publication including rs code in dbSNP database (NCBI) and impact on protein sequence

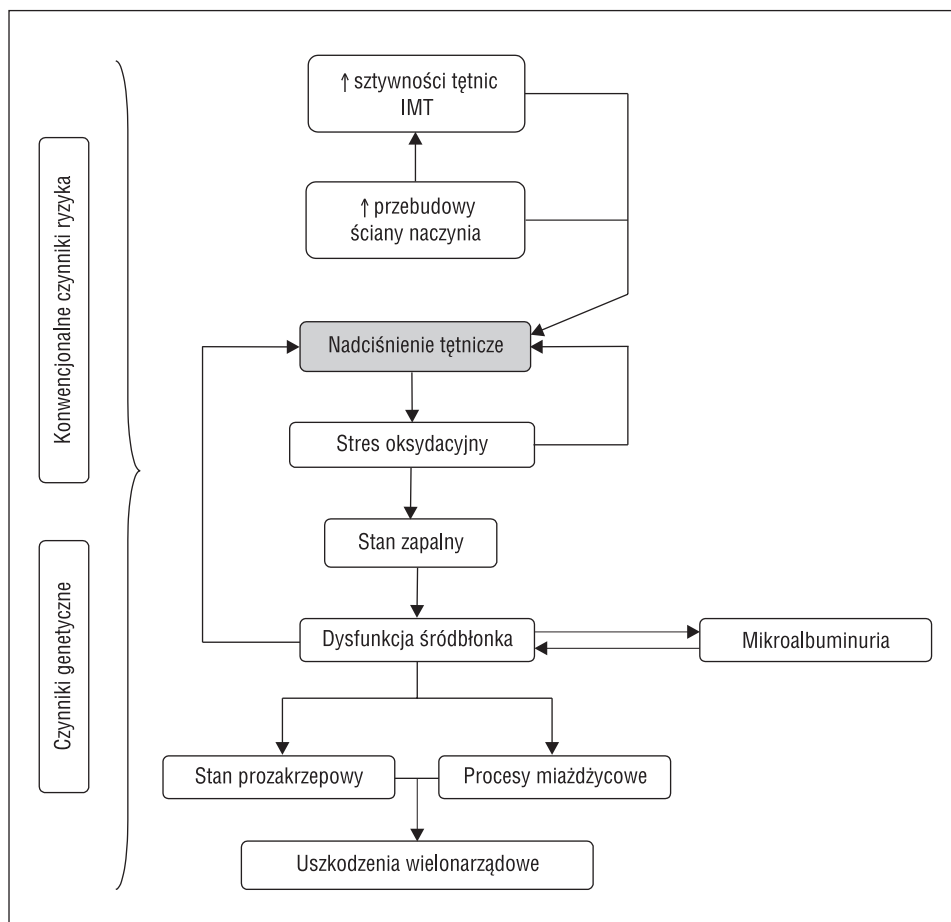
Gen kandydat	Produkt	Polimorfizm	dbSNP	Sekwencja białka
<i>PAI1</i>	Inhibitor tkankowego aktywatora plazminogenu	4G/5G		-
<i>ACE</i>	Konwertaza angiotensyny II	I/D	rs4340	-
<i>AGTR1</i>	Receptor angiotensyny II typu I	1166A > C -153A > G 573C > T	rs5186 rs275653 rs5182	- - -
<i>NOS3</i>	Endotelialna syntaza tlenku azotu	894G > T -786T > C 4B/A	rs1799983 rs2070744	Glu298Asp - -
<i>MTHFR</i>	Reduktaza metylenotetrahydrofolianu	677C > T	rs1801133	Ala222Val
<i>AGT</i>	Angiotensynogen	704C > T -532C > T A-6G	rs699 rs5051	Met235Thr - -
<i>GNB3</i>	Podjednostka $\beta$ 3 białka G	825C > T	rs5443	-
<i>ADD1</i>	$\alpha$ -adducyna	1566G > T	rs4961	Gly460Trp
<i>CYP11B2</i>	Syntaza aldosteronu	-344C > T	rs1799998	-
<i>FBN1</i>	Fibrylina-1	VNTR (TAAAA)	-	-
<i>MMP3</i>	Metaloproteinaza 3	5A/6A	rs3025058	-
<i>MMP9</i>	Metaloproteinaza 9	-1562C > T 855A > G	rs3918242 rs17576	- Arg279Gln
<i>APOE</i>	Apolipoproteina E	471T > C 609C > T	rs429358 rs7412	Cys112Arg Cys158Arg
<i>ADRB2</i>	Receptor adrenergiczny $\beta_2$	46A > G	rs1042713	Arg16Gly
<i>ADM</i>	Adrenomedulina	VNTR (AC)	-	-

## Budowa ściany naczynia

Ściana naczynia jest zbudowana z 3 warstw. Wewnętrzna (*intima*) jest zbudowana z komórek śródbłonna oraz podśródbłonkowych włókien kolagenowych i błony sprężystej wewnętrznej. Środkową (*media*) tworzą komórki mięśni gładkich oraz włókna sprężyste o układzie okrężnym. Warstwa zewnętrzna (*adventitia*) jest utworzona z tkanki łącznej wiotkiej, zawierającej liczne włókna kolagenowe i sprężyste o przebiegu podłużnym. Od mechanicznych właściwości warstwy środkowej zależy elastyczność ściany naczyniowej, polegająca na podatności na rozciąganie pod wpływem skurczowego wzrostu ciśnienia i powrocie do poprzedniego stanu po jego spadku. Od tych właściwości elastycznych zależy czynnościowa pojemność tętnic doprowadzających (tj. ciśnienie tętna i laminarny przepływ krwi). Od włókien kolagenowych zależy sztywność ściany naczyniowej, a od napięcia mięśniówki gładkiej — średnica naczynia, warunkująca opór naczyniowy.

Komórki mięśni gładkich naczyń posiadają receptory mające połączenie z elastyną i lamininą. Ich pobudzenie powoduje aktywację szeregu szlaków sygnalizacyjnych (pośredniczonych przez białka G) związanych z regulacją przerostu i funkcji mięśni gładkich. Tak więc włókna sprężyste, pełniąc funkcję czujnika mechanicznego, przekładają siły działające w ścianie naczyniowej na stan mięśni gładkich. Z kolei mięśnie gładkie mogą modyfikować pod wpływem tego sygnału średnicę światła naczynia [7, 8].

Warstwa zewnętrzna, zwana także przydanką, poza właściwościami mechanicznymi, jest niezwykle czynną częścią ściany naczyniowej, reagującą najwcześniej na czynniki patologiczne, na przykład podwyższone ciśnienie krwi. Związane jest to z tym, że jest ona siedliskiem i źródłem wielu rodzajów komórek. Należą do nich fibroblasty, komórki progenitorowe migrujące do wszystkich warstw naczynia i różnicujące się w komórki mięśniówki gładkiej lub komórki śródbłonna (przejaw procesów naprawczych w przypadku uszkodzenia naczynia).



**Rycina 1.** Poglądowy schemat mechanizmów prowadzących do rozwoju wczesnych i późnych powikłań nadciśnienia tętniczego

**Figure 1.** Schematic representation of mechanisms leading to early and late complications of hypertension

Śródbłonek naczyniowy stanowi barierę między krwią a pozostałymi warstwami naczynia. Prawidłowe funkcjonowanie śródbłonna zapewnia właściwą regulację wazomotoryki, hemostazy, angiogenezy oraz procesów zapalnych i immunologicznych. Komórki śródbłonna, wytwarzając wiele czynników wzrostowych, wpływają na mięśniówkę gładką poprzez regulację jej napięcia, metabolizm oraz migrację, proliferację i apoptozę komórkową. Endotelium uczestniczy również w syntezie składników macierzy zewnątrzkomórkowej [9].

### Zaburzenia czynności śródbłonna

Dysfunkcję śródbłonna określa się jako szereg zmian morfologicznych i fizjologicznych, które prowadzą do nieprawidłowej dylatacji naczyń i przepływu krwi, a w dalszej kolejności do nasilenia procesów zapalnych.

Dyskutowane jest, czy procesy zapalne prowadzą do przyspieszonego rozwoju miażdżycy i nadciśnienia tętniczego, czy też są następstwem uszkodzenia ściany naczyniowej w przebiegu nadciśnienia [10–12].

W tym ostatnim ujęciu upośledzenie czynności śródbłonna można rozpatrywać jako wczesne powikłanie nadciśnienia tętniczego. Jednak niezależnie od tego wydaje się, że towarzyszące stanom zapalnym zaburzenie czynności śródbłonna jest niezależnym czynnikiem rokującym wystąpienie kolejnych powikłań nadciśnienia tętniczego, takich jak zwiększona sztywność tętnic, choroba niedokrwienna, zawał serca i udar mózgu [13–15].

Dysfunkcja śródbłonna przejawia się zaburzeniem wytwarzania i aktywności biologicznej tlenu azotu (NO), któremu towarzyszy zmniejszone uwalnianie prostacykliny (PGI<sub>2</sub>). Jednocześnie następuje przesunięcie równowagi w kierunku zwiększania wytwarzania przez komórki śródbłonna czynników kurczących naczynia — endoteliny-1 (ET-1), angiotensyny II (ATII) i tromboksanu A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>). Zaburzenia hemostatycznej funkcji śródbłonna prowadzą w konsekwencji do upośledzenia relaksacji mięśniówki gładkiej, aktywacji zapalnej śródbłonna, co sprzyja procesom zakrzepowym [7, 14, 15].

Wtórny przejawem dysfunkcji śródbłonna jest

nasilony stres oksydacyjny, definiowany jako zachwianie równowagi między substancjami utleniającymi a układem antyoksydacyjnym. W wyniku stresu oksydacyjnego powstają reaktywne formy tlenu, które wpływają na opór naczyniowy poprzez między innymi ograniczenie biodostępności NO, upośledzenie rozkurczu naczyniowego w wyniku peroksydacji lipidów błony komórkowej, pobudzenie wytwarzania endoteliny i proliferacji mięśniówki gładkiej naczynia [18–21]. Dodatkowo wolne rodniki wpływają na proces zapalny poprzez zwiększoną syntezę i wydzielanie czynnika aktywującego płytki krwi, który nasila ekspresję czynników przylegania leukocytów. Co więcej, wolne rodniki zmniejszają syntezę i uwalnianie NO hamującego ekspresję i wydzielanie czynników przylegania z grupy integryn i selektyn (warunkujących toczenie się, aktywację i adhezję leukocytów) [22].

Wydaje się, że prawidłowe funkcjonowanie śródbłonna ma również podłoże genetyczne. Oznacza to, że różnice w czynności śródbłonna mogą wynikać z współwystępowania wariantów polimorficznych genów, których produkty kontrolują uwalnianie mediatorów śródbłonkowych lub są odpowiedzialne za ich metabolizm [23].

Jednocześnie przy analizowaniu wpływów czynników genetycznych na funkcjonowanie śródbłonna naczyniowego należy uwzględnić wpływ czynników upośledzających, takich jak palenie tytoniu, cukrzyca, dyslipidemia, otyłość oraz hiperhomocysteinemia.

W genetycznym podłożu czynności śródbłonna bierze się pod uwagę między innymi polimorfizm genów konwertazy angiotensyny II (*ACE*, *angiotensin-converting enzyme*) i genu receptora angiotensyny II typu 1 (*AGTR1*, *angiotensin II receptor, type I*). Produkty tych genów mogą bezpośrednio wpływać na regulację procesów krzepnięcia i fibrynolizy. U pacjentów z nadciśnieniem tętniczym często stwierdza się skłonność do zaburzenia dynamicznej równowagi między procesami prozakrzepowymi, objawiającymi się wzrostem stężenia fibrynogenu, a procesami fibrynolitycznymi. Dotychczasowe obserwacje wskazują na współzależność aktywności i stężenia tkankowego aktywatora plazminogenu (tPa) oraz jego inhibitora (PAI-1) z występowaniem powikłań narządowych nadciśnienia tętniczego [24, 25].

Tkankowy aktywator plazminogenu jest proteazą serynową wydzielaną przez komórki śródbłonna naczyń, przekształcającą nieaktywną formę plazminogenu w plazminę. Zwiększona aktywność tPa powoduje zwiększoną fibrynolizę, a obniżona aktywność sprzyja procesom zakrzepowym i zatorom. Wyniki badań wskazują, że analiza tych składowych układu fibrynolizy osoczowej umożliwi przewidywanie wy-

stąpienia choroby wieńcowej w przyszłości (i prognozowanie jej przebiegu) oraz ostrych incydentów sercowych [26].

Najszerzej badanym czynnikiem genetycznym mającym związek z aktywnością fibrynolityczną jest polimorfizm delecyjno/insercyjny (4G/5G) regionu promotorowego genu kodującego inhibitor plazminogenu typu 1 (*PAI1*). Symbol 4G/5G oznacza 4 lub 5 nukleotydów guaniny. Możemy więc wyróżnić 3 rodzaje genotypów — homozygoty 4G/4G i 5G/5G oraz heterozygoty 4G/5G. Stwierdzono, że obecność allelu 4G wiąże się ze zwiększonym wydzielaniem osoczowego PAI-1 pod wpływem interleukiny-1, a także zwiększonym ryzykiem wystąpienia choroby niedokrwiennej serca, epizodów wieńcowych oraz nagłych zgonów sercowych [27–30]. Dodatkowo Jastrzębska i wsp. potwierdzili wcześniejsze doniesienia, wskazując, że polimorfizm 4G/5G genu *PAI1* (allel 4G) i polimorfizm genu *ACE* (allel D) u pacjentów z samoistnym nadciśnieniem tętniczym modyfikuje układ hemostazy w kierunku prozakrzepowym, a efekt ten jest szczególnie nasilony przy współwystępowaniu dyslipidemii [31, 32]. Wyniki badań sugerują, że jest to związane z faktem, że lipoproteiny o bardzo małej gęstości (VLDL) oraz angiotensyna II są czynnikami transkrypcyjnymi zwiększającymi ekspresję genu *PAI1* [33].

Na aktywność fibrynolityczną wpływa także polimorfizm inercyjno/delecyjny (I/D) (numer w bazie SNP prowadzonej przez NCBI: rs4340) genu *ACE*, który jest istotnym elementem układu renina–angiotensyna–aldosteron (RAA). Polimorfizm ten występuje w intronie 16 i polega na obecności (I — *insertion*) lub braku (D — *deletion*) fragmentu o długości 287 par zasad w sekwencji *Alu* repetytywnej.

Wyniki badań Makrisa i wsp. przeprowadzonych na grupie pacjentów z nieleczonym nadciśnieniem tętniczym wykazały związek genotypu DD ze zwiększonym stężeniem osoczowego PAI-1, tPA, fibrynogenu, D-dimerów i czynnika von Willebranda (VWF) [34]. Szczególnie interesujące jest powiązanie polimorfizmu I/D *ACE* ze stężeniem czynnika Willebranda. Czynnikiem ten jest glikoproteiną syntezowaną przez komórki śródbłonna, biorącą udział w procesach adhezji płytek krwi w miejscu uszkodzenia naczynia oraz agregacji płytek. Obecnie uważa się, że pomiary osoczowego czynnika von Willebranda najlepiej odzwierciedlają stan śródbłonna w chorobach naczyniowych, a zatem mogą być stosowane jako czynnik predykcyjny zdarzeń sercowo-naczyniowych [35]. Zagadnienie jest na tyle interesujące, że są prowadzone badania mające na celu określenie wpływu wariantów genetycznych genu kodującego czynnika von Willebranda na jego stężenie w osoczu i aktywność [36].



Badania wskazują na 2 potencjalne mechanizmy, w jakich allel D wpływa na funkcję śródbłonna. Zwiększona aktywność ACE u nosicieli allelu D w sposób oczywisty wiąże się ze zwiększonym przekształcaniem angiotensyny I w angiotensynę II. Angiotensyna II aktywuje z kolei oksydazę NAD(P)H związaną z białkami komórek śródbłonna, mięśni gładkich i fibroblastów do wytwarzania anionu ponadtlenkowego ( $O_2^{\cdot-}$ ) przez jednoelektronową redukcję tlenu. Anion ponadtlenkowy, reagując ze składnikami lipidów błony komórkowej (peroksydacja), prowadzi do jej niestabilności i zmian przepuszczalności oraz zaburza transport przez błonowy. Co więcej, zmniejsza biodostępność rozszerzającego NO poprzez utlenienie go do postaci nadtlenu azotynu ( $ONOO^-$ ), mającego z kolei działanie naczyniokurczące i prozakrzepowe. Drugi mechanizm wpływu allelu D na funkcje śródbłonna obejmuje nasilone procesy rozkładu bradykininy, która zwiększa wydzielanie NO oraz prostacykliny przez komórki śródbłonna. U nosicieli allelu D stwierdzono także wyższe stężenie angiotensyny, która z kolei poprzez receptor  $AT_1$  stymuluje syntezę i wydzielanie PAI-1 [32, 37].

Zainteresowanie badaczy wzbudzają warianty polimorficzne genu receptora angiotensyny II typu I (*AGTRI*), które kodują łatwiej aktywowany receptor. Angiotensyna II poprzez receptor  $AT_1$  zwiększa poziom transkrypcji genu dla mineralokortykosteroidów, między innymi w komórkach mięśni gładkich naczyń wieńcowych. Niektóre badania wykazały również, że polimorfizm tego genu może decydować o poziomie jego ekspresji. Dowiedziono, że polimorfizm 1166A>C (rs5186), polegający na zamianie nukleotydu adeninowego na cytozynowy, występuje w części niepodlegającej translacji (3'UTR). Wyniki badań przeprowadzonych przez Tireta i wsp. sugerują związek allelu C z zaburzonym procesem autoregulacji aktywności receptorów, czyli zmniejszeniem gęstości  $AT_1$  w warunkach dużego stężenia angiotensyny II. W niektórych badaniach wskazano na synergistyczny efekt wariantu 1166C *AGTRI* i genotypu DD genu *ACE* w rozwoju powikłań nadciśnienia, to znaczy choroby niedokrwiennej serca i zawałów [38], w innych zaprzeczono tej hipotezie [39].

Jak już wcześniej wspomniano, dysfunkcja śródbłonna jest związana z zaburzonymi mechanizmami antyoksydacyjnymi, a w rezultacie ze zmniejszoną dostępnością NO, wynikającą ze zmniejszonej jego syntezy lub nasilonej inaktywacji [40]. W komórkach śródbłonna NO jest syntezowany przez jedną z trzech izoform syntazy tlenu azotu — syntezę endotelialną (eNOS). W wielu pracach wykazano zależność między zmianami w obrębie genu

*NOS* a zwiększonym ryzykiem chorób naczyniowych (tj. nadciśnienia tętniczego, choroby wieńcowej czy zawału serca) [41].

Do najczęściej badanych polimorfizmów genu *NOS3*, zlokalizowanego na chromosomie 7, należą polimorfizm 894G>T (egzon 7), eNOS4 (4B/A), -786T>C [42]. Polimorfizm 894G>T (rs1799983) prowadzi do zmiany aminokwasu glutaminy na kwas asparaginowy w kodonie 298 (Glu298Asp), nie wpływając jednak na aktywność samej syntazy NO. Niektóre badania sugerują, że kwas asparaginowy w łańcuchu białkowym zwiększa wrażliwość syntazy na aktywność proteolityczną komórek śródbłonna, prowadząc w ten sposób do zmniejszenia jej biodostępności [43]. Wydaje się też, że homozygoty pod względem allelu T wykazują upośledzoną wazodylatację tętnic wieńcowych, co może prowadzić do choroby wieńcowej [44]. Obserwowano również nadreaktywność mięśniówki gładkiej naczyń.

Polimorfizm -786T>C (rs2070744) dotyczy miejsca promotorowego genu syntazy NO. U nosicieli wariantu 786C stwierdzono niższy poziom mRNA eNOS i jej stężenia w osoczu. Najprawdopodobniej ten wariant polimorficzny wpływa na siłę wiązania jądrowych czynników transkrypcyjnych, a zatem na poziom ekspresji genu [45]. W wielu badaniach wykazano związek allelu C z nadciśnieniem tętniczym [46], zmniejszoną wazodylatacją mięśniówki gładkiej i nadmiernym wzrostem ciśnienia krwi związanym z wysiłkiem fizycznym [47].

Polimorfizm eNOS4 w intronie 4 polega na powtórzeniu sekwencji 27 pz (polimorfizm insercyjny, allel B) lub braku takiego powtórzenia (polimorfizm delecyjny, allel A). Wykazano związek allelu A ze zmniejszoną aktywnością syntazy tlenu azotu, a w konsekwencji z mniejszą ilością wytworzonego NO. Wyniki badań sugerują większą podatność nosicieli allelu A na rozwinięcie zmian miażdżycowych w tętnicach szyjnych, niezależnie od współwystępowania innych czynników ryzyka [48]. Wykazano jednocześnie, że genotyp BB występuje częściej u pacjentów z ostrymi zespołami wieńcowymi [49]. Co więcej, istnieje podejrzenie, że od wariantów polimorficznych genu *NOS3* może również zależeć stopień hiperinsulinemii i insulinooporności [50].

Na uwagę zasługuje także polimorfizm genu kodującego reduktazę metylenotetrahydrofolianu (*MTHFR*). Warunkuje ona przekształcenie 5,10-metylenotetrahydrofolianu do 5-metylenotetrahydrofolianu, który jest niezbędny do przekształcenia potencjalnie toksycznego aminokwasu homocysteiny do metioniny przez syntazę metioninową. Homocysteina wpływa na proces wytwarzania NO poprzez zużywanie tetrahydrobiopteryny ( $BH_4$ ), będącej ko-

faktorem tej reakcji. W konsekwencji naczyniorozszerzające działanie NO w warunkach hiperhomocysteinemii zostaje upośledzone, co sprzyja rozwojowi chorób sercowo-naczyniowych. Co więcej, niedobór BH<sub>4</sub> powoduje, że w reakcji syntazy tlenu azotu powstaje nie NO, a wolne rodniki tlenowe. Homocysteina ma również właściwości cytotoksyczne wobec komórek śródbłonna, nasila degradację elastyny w błonie wewnętrznej naczynia, prowadząc do procesów włóknienia. Ponadto nasila procesy zakrzepowe poprzez wywieranie wpływu na tPa oraz przyspiesza procesy miażdżycowe, modyfikując aktywność lipoproteiny LDL [51, 52]. Różne warianty polimorficzne genów *MTHFR* mogą prowadzić do zaburzeń procesów metabolicznych homocysteiny i prowadzić do wzrostu jej stężenia. Najczęściej występującą zmianą w genie *MTHFR* jest zamiana cytozyny na tyminę w pozycji 677 (rs1801133, 677C>T), która prowadzi do zmiany sekwencji aminokwasowej (Ala222Val). Wyniki badań wskazują, że polimorfizm ten odpowiada za redukcję aktywności *MTHFR* i wzrost stężenia całkowitej homocysteiny u pacjentów homozygotycznych pod względem allelu T. Co więcej, stwierdzono częstsze występowanie zakrzepicy u homozygot TT [53].

Jak wspomniano wcześniej, trudno jest stwierdzić charakter uszkodzenia śródbłonna. Wydaje się, że pierwotne zmiany funkcji śródbłonna u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym (np. zmniejszenie biodostępności NO) nakładają się na zmiany wtórne, będące przejawem mechanizmów obronnych przed podwyższonym ciśnieniem krwi. Niemniej zbadanie polimorfizmów genów związanych z uszkodzeniem śródbłonna jeszcze przed wystąpieniem oznak jego uszkodzenia może być znaczącym wskaźnikiem prognostycznym chorób układu krążenia.

## Zjawisko sztywnienia tętnic

Sztywnienie tętnic oraz związane z nim zjawisko odbicia fali tętna i wzrost ciśnienia tętna są uważane za jedne z ważniejszych wskaźników ryzyka incydentu sercowo-naczyniowego, choroby niedokrwiennej serca, udarów mózgu, zwłaszcza u pacjentów powyżej 55. rż. [54–58].

Czynnikami indukującymi proces przebudowy ściany naczynia i angiogenezę są: niedotlenienie tkanek, czynniki zapalne i cytokiny uwalniane podczas stanu zapalnego oraz stres mechaniczny, czyli rozciąganie i działanie sił ścinających.

W początkowym okresie podwyższone ciśnienie tętnicze prowadzi do uruchomienia mechanizmów kompensacyjnych, to znaczy do zwiększenia produkcji elementów sprężystych naczynia oraz do

zwiększenia grubości ścian naczyń, co utrzymuje prawidłowe naprężenie naczynia. W wyniku długotrwałego podwyższenia wartości ciśnienia krwi dochodzi do przebudowy strukturalnej ściany naczyń, głównie w obrębie warstwy wewnętrznej i środkowej, co skutkuje zwiększoną sztywnością naczynia. Zwiększona sztywność tętnic sprężystych jest efektem stopniowej degradacji włókien elastyny i zastępowaniem ich niesprężystym, sztywnym kolagenem. Zjawisko to jest obserwowane szczególnie w warstwie środkowej dużych tętnic. Z kolei zwiększona sztywność tętnic mięśniowych (tętnica udowa i promieniowa) jest powiązana z dysfunkcją śródbłonna, aktywacją układu RAA i przerostem błony mięśniowej [59–61]. W wyniku tych procesów dochodzi do szeregu zmian — zwiększenia pola przekroju poprzecznego, średnicy światła naczynia, grubości ściany aorty i dużych tętnic. Procesom tym towarzyszy wzrost sztywności tętnicy, ocenianej między innymi na podstawie ciśnienia tętna oraz prędkości przemieszczania się fali tętna (PWV, *pulse wave velocity*), i zmniejszenie podatności ściany tętnic [62, 63]. W warunkach fizjologicznych rozchodzenie się fali tętna jest stosunkowo wolne, wraca do aorty wstępującej w okresie jej rozkurczu, zwiększając ciśnienie rozkurczowe, co z kolei skutkuje zachowaniem prawidłowego ciśnienia perfuzji rozkurczowej sierdca. Fizjologiczne starzenie się organizmu oraz stany patologiczne prowadzą do istotnego zwiększenia sztywności tętnic, czego skutkiem jest wzrost prędkości rozchodzenia się fali tętna i szybszy powrót fali odbitej, zwiększającej ciśnienie skurczowe w momencie skurczu serca, co prowadzi do wzrostu ciśnienia krwi i wzmożonej pracy serca. Jest to niezwykle istotne spostrzeżenie w wyjaśnieniu przyczyn powiększania się mięśnia sercowego w przebiegu nadciśnienia tętniczego oraz występującej w rezultacie jego niewydolności [57, 62].

Należy również nadmienić, że od sprężystych elementów ściany naczynia, odpowiadających za wielkość i szybkość rozciągania ściany tętniczej, zależy odpowiedź baroreceptorów na deformację mechaniczną. Zmniejszenie podatności osłabia rozciąganie ściany zatoki szyjnej i skuteczność bodźca pobudzającego baroreceptory tętnicze. W konsekwencji następuje osłabienie odruchu przywspółczulno-sercowego, a następnie przyspieszenie akcji serca [64].

Sztywność tętnic jest cechą, na którą mają wpływ zarówno czynniki środowiskowe (m.in. cukrzyca, palenie tytoniu i hipercholesterolemia) [65–68], jak i genetyczne [69]. W badaniach nad podłożem genetycznym zjawiska sztywnienia tętnic ocenia się wpływ wariantów polimorficznych genów kandydatów, których produkty są związane z kontrolą ciśnie-

nia tętniczego (tj. układ RAA, syntaza NO, endotelina i jej receptory, białka sygnałowe G oraz geny kodujące składniki macierzy zewnątrzkomórkowej naczynia i czynniki wpływające na jej właściwości).

Spośród genów kandydatów związanych z nadciśnieniem tętniczym największe zainteresowanie budzą geny kodujące składowe układu RAA, a szczególnie polimorfizm genów angiotensynogenu (*AGT*), konwertazy angiotensyny (*ACE*) i syntazy aldosteronu (*CYP11B2*).

Angiotensyna II jako hormon endo- i parakryny reguluje miejscowo stan napięcia ściany naczynia, aktywując skurcz (poprzez receptor typu I,  $AT_1$ ) lub rozkurcz (poprzez uwalnianie NO po aktywacji poprzez receptor typu II,  $AT_2$ ). W warstwie środkowej naczynia Ang II zapoczątkowuje procesy proliferacji i hipertrofii komórek mięśni gładkich, a w warstwie środkowej i wewnętrznej rozwój tkanki łącznej poprzez zwiększoną produkcję włókien elastycznych, kolagenowych i fibronektyny. Może to być postrzegane jako przejaw mechanizmu naprawczego, adaptującego narząd do nowych warunków hemodynamicznych. Jednakże długotrwałe warunki podwyższonego ciśnienia tętniczego prowadzą do zgrubienia i zwłóknienia ściany naczynia oraz indukcji ekspresji genów układu RAA [70].

Angiotensyna II wpływa na metabolizm głównie poprzez receptor  $AT_1$ , który jest transbłonowym białkiem związanym z białkiem G. Rola białka G polega na przewodzeniu pobudzenia z receptora oraz na wzmocnieniu sygnału. Stwierdzono, że receptor  $AT_1$  jest związany głównie z podjednostką  $\alpha_q$ , która aktywuje fosfolipazę C, D i  $A_2$ . Fosfolipaza  $A_2$  uwalnia cząsteczki kwasu arachidonowego z fosfolipidów błony komórkowej, który jest substratem silnych biologicznie związków związanych ze stanem zapalnym śródbłonna — prostaglandyn, tromboksanów i leukotrienów.

Gen *AGT* zlokalizowany na chromosomie 1 koduje angiotensynogen, syntezowany głównie w hepatocytach wątroby i przekształcany w angiotensynę I przy udziale reniny.

W ostatnich latach trwają intensywne badania nad związkiem polimorfizmu genu *AGT* (rs699, 704C>T), polegającego na transycji nukleotydu cytozynowego na tyminę, co skutkuje zmianą aminokwasu w łańcuchu białkowym angiotensyny (Met235Thr). Wyniki badań wskazują na związek genotypu TT z wyższym o 15–40% stężeniem angiotensynogenu w porównaniu z homozygotą MM i na zwiększoną grubość kompleksu IMT u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym. Co więcej, osoby z genotypem TT wykazywały mniejszą podatność tętnicy szyjnej określaną za pomocą modułu Younga (stosunek modułu sprężystości do grubości ścia-

ny tętnicy i jej napięcia) niezależnie od ciśnienia krwi [71]. Baker i wsp. potwierdzili także związek polimorfizmu -532C>T *AGT* ze wzrostem sztywności tętnic i ciśnienia tętna [72].

Spośród wielu polimorfizmów genu receptora typu I dla angiotensyny II (*AGTR1*), zlokalizowanego w niekodującym regionie chromosomu 3, największe zainteresowanie budzi polimorfizm polegający na zamianie nukleotydu adeninowego na cytozynę w pozycji 1166. W jednym z pierwszych badań nad wariantami polimorficznymi genu *AGTR1* wykazano związek polimorfizmu 1166A>C ze sztywnością tętnic zarówno u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym, jak i normotensyjnych. Wydaje się, że allel 1166C jest związany ze zwiększoną sztywnością tętnic, nawet po uwzględnieniu czynnika wieku i wartości ciśnienia tętniczego [73]. Podobne wnioski dotyczące wpływu wariantu 1166C na sztywność tętnic wynikają z badania populacji azjatyckiej [74]. Grupa badawcza Lajemi i wsp. [75] wykazała z kolei, że wariant polimorficzny -153G *AGTR1* wpływa na wzrost sztywności tętnic wraz z wiekiem, a związek ten jest szczególnie widoczny po 55. rż. Co więcej, wyniki badań sugerują, że polimorfizm genu *AGTR1* w pozycji 1166C i -153G wywiera efekt addytywny na wzrost parametrów oceniających sztywność tętnic.

Jak wcześniej wspomniano, białka G o aktywności GTP-azy to grupa polimorficznych białek związanych z transdukcją sygnałów w komórkach. Poprzez zmiany konformacyjne białko G uczestniczy w procesach kaskadowego przekazywania sygnału do wnętrza komórki. W związku z tym można się spodziewać, że zmiany w poziomie ekspresji lub zmiany struktury związane z mutacją w tym genie mogą się wiązać z zaburzeniami w funkcjonowaniu komórki, a zatem uczestniczyć w patogenezie niektórych chorób.

Wiele badań dotyczy polimorfizmu w pozycji 825C>T (rs5443) egzonu 10 (polegającego na transycji cytozyny na tyminę) genu podjednostki  $\beta_3$  białka G. Polimorfizm ten nie wpływa na zmianę sensu kodonu, to znaczy sekwencja aminokwasowa w tym kodonie nie ulega zmianie, natomiast wpływa na proces alternatywnego składania mRNA. W wyniku tego procesu powstaje wariant mRNA z brakującymi nukleotydami w pozycji 498-620 w egzonie 9, co skutkuje powstaniem skróconego łańcucha polipeptydowego podjednostki  $\beta_3$  białka G. Stwierdzono, że występowanie allelu T wiąże się ze zwiększoną aktywnością białka G. Białko G uczestniczy między innymi w proliferacji i migracji komórek mięśniówki gładkiej, aktywacji i adhezji płytek krwi, co może mieć swoje odzwierciedlenie w procesach związa-



nych z przebudową ściany tętnic i procesami miażdżycowymi. Nurnberger i wsp. w badaniu populacji młodych mężczyzn wykazali zwiększoną wartość PWV i współczynnika wzmocnienia AIx u heterozygot CT i homozygot TT niezależnie od współistniejących czynników ryzyka [76]. Z kolei w badaniach przeprowadzonych przez Olszanecką i wsp. wykazano, że wpływ polimorfizmu 825C>T na parametry funkcji naczyń jest istotny tylko w starszej grupie wiekowej badanej populacji [77].

Wpływ polimorfizmu I/D *ACE* na sztywność tętnic jest szeroko dyskutowany, a wyniki badań często stoją w sprzeczności. Wykazano, że allel I jest związany ze wzrostem sztywności tętnic zarówno u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym, jak i z prawidłowymi wartościami ciśnienia [78–80] oraz u chorych na cukrzycę typu 2 [81]. Z kolei wyniki badania *The Rotterdam Study* wskazują, że genotypy ID i DD wiążą się ze zwiększoną sztywnością tętnicy szyjnej i zwiększoną wartością ciśnienia tętna, ale nie z prędkością fali tętna PWV. Związek ten jest szczególnie nasilony u pacjentów poniżej 70. rż. [82, 83].

Dowiedziano, że występowanie allelu D wiąże się z większą aktywnością konwertazy angiotensyny. Enzym ten również degradowuje bradykininę, która poprzez pobudzenie śródbłonkowych receptorów ma zdolność uwalniania NO przez śródbłonek i tłumaczy wpływ polimorfizmu I/D na układ naczyniowy.

Bardzo ciekawych wyników dostarczyło prospektywne badanie populacyjne *Flemish Study on Environment Genes and Health Outcomes* (FLEMENGHO), w którym wykazano wpływ wzajemnego oddziaływania genów na podatność tętnicy szyjnej i udowej [84]. Stwierdzono związek polimorfizmu 1566 G>T (rs4961) genu dla alfa-adducyny (*ADD1*) z nadciśnieniem sodowrażliwym. Polimorfizm ten charakteryzuje się substytucją guaniny przez tyminę w pozycji 217 egzonu 10, co skutkuje zmianą aminokwasu glicyny na tryptofan w pozycji 460 łańcucha białkowego (Gly460Trp) [85]. Adducyna to białko cytoszkieletowe, regulujące transport jonów przez błony komórkowe oraz transdukcję sygnału. Może mieć również wpływ na wielkość lewej komory poprzez wpływ na regulację transportu sodu.

Wyniki badania wskazały na współdziałanie polimorfizmu I/D genu konwertazy angiotensyny oraz polimorfizmu Gly460Trp *ADD1* w zwiększaniu ryzyka wystąpienia nadciśnienia tętniczego. Obecność allelu W (Trp) genu alfa-adducyny podwyższało ryzyko nadciśnienia tętniczego i zwiększonej aortalnej prędkości tętna w przypadku jednoczesnego nosicielstwa dwóch alleli *D* genu *ACE* [86].

Spośród wielu polimorfizmów genu syntazy aldosteronu (*CYP11B2*) najwięcej badań poświęcono tranzykcji nukleotydu cytozynowego na tyminowy w pozycji -344 (rs1799998, -344C>T), znajdującego się w odcinku promotorowym. Ponieważ polimorfizm ten dotyczy sekwencji promotorowej genu, nie zmienia on sekwencji aminokwasowej syntazy aldosteronowej, wpływa jednak na poziom ekspresji genu. Wykazano między innymi, że wariant polimorficzny -344C wykazuje około 4-krotnie większe powinowactwo do białka regulatorowego SF-1, które zwiększa ekspresję genu. Dlatego u homozygot CC obserwuje się zwiększone stężenie osoczonego aldosteronu w porównaniu z homozygotami TT [87].

Ponieważ receptory aldosteronu znajdują się nie tylko w kanalikach dalszych nefronu, ale także w mózgu, ścianie naczyń krwionośnych i w sercu, hormon ten może wpływać na przerost i przebudowę ścian naczyń i serca, a także upośledzać funkcję śródbłonna. W niektórych pracach wykazano związek polimorfizmu genu syntazy aldosteronu *CYP11B2* -344C>T ze wzrostem sztywności tętnic ocenianej na podstawie PWV [87–89], inne natomiast zaprzeczyły temu związkowi [75, 86]. W jednym z ostatnich badań wykazano związek wariantu polimorficznego CC i TC u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym ze wzrostem aortalnej fali tętna i zjawiskiem szybszego powrotu fali odbitej, co powoduje wzrost amplitudy ciśnienia skurczowego w aorcie [90]. Najprawdopodobniej efekt wywierany przez warianty polimorficzne genu *CYP11B2* jest modulowany przez wysoki poziom wydalania sodu (210 mmol/dz.) [88, 91].

W procesie przebudowy ściany naczynia krwionośnego biorą udział macierzone metaloproteiny (MMP, *matrix metalloproteinases*) należące do rodziny wielodomenowych enzymów proteolitycznych, zawierających w miejscu katalitycznym jon cynku. Są one wydzielane w postaci nieaktywnej (proenzymu) poza komórkę lub pozostają związane z błonami komórkowymi. Główną rolą MMP jest degradowanie białek macierzy pozakomórkowej, które pełnią funkcje regulacyjne i strukturalne, nadając tkancom odpowiednie właściwości fizyczne (tj. kolagenu, laminy, proteoglikanów czy fibronektyny). Aktywność MMP ułatwia migrację komórek z macierzy pozakomórkowej oraz jest związana z uwalnianiem i modulacją aktywności czynników wzrostu, cytokin i chemokin [92, 93]. Metaloproteiny biorą również udział w formowaniu i degradowaniu receptorów komórkowych, a także w procesach niezwiązanych z przebudową macierzy zewnątrzkomórkowej, takich jak agregacja płytek [94] oraz własności wazoaktywne naczynia krwionośnego [95]. Związek aktywności MMP z wieloma procesami fi-

zjologicznymi, takimi jak apoptoza, angiogeneza czy migracja komórek, które są powiązane z wieloma stanami patologicznymi, doprowadził do intensywnych badań nad tą grupą enzymów. Badania te obejmują również wpływ wariantów polimorficznych genów kodujących MMP oraz ich substratów na zaburzenia w obrębie macierzy zewnątrzkomórkowej naczyń krwionośnych i ich przebudowę oraz związek z powikłaniami sercowo-naczyniowymi [96].

Badania nad wpływem wariantów polimorficznych na właściwości ściany tętnic skupiają się głównie na genach kodujących włókna elastyny, fibryliny-1 i MMP.

Elastyna jest białkiem strukturalnym będącym głównym składnikiem ścian większych naczyń krwionośnych. Włókna elastyny w ścianie naczyń krwionośnych nadają im zdolność do odzyskiwania pierwotnego kształtu, natomiast zaburzenia w strukturze włókien elastyny mogą prowadzić między innymi do zmiany właściwości ściany naczynia, czyli do nasilonej sztywności tętnic [97, 98].

Białko fibrylina-1 jest głównym składnikiem mikrofibryli tworzących elastynę i odpowiada głównie za elastyczność macierzy zewnątrzkomórkowej tkanki łącznej. Mutacja w genie fibryliny-1 *FBN1* powoduje zaburzenia struktury tkanki łącznej związane z zespołem Marfana. Objawami charakterystycznymi dla tego zespołu są: zmiany w tkance łącznej szkieletu i gałek ocznych, sztywnienie naczyń krwionośnych i tętniaki rozwarstwiające aorty.

Oprócz mutacji związanej z zespołem Marfana, znane i szeroko są badane jeszcze 3 inne warianty polimorficzne genu *FBN1* oparte na zmiennej liczbie tandemowych powtórzeń (polimorfizm VNTR) motywu TAAAA w intronie 28 genu.

U osób z genotypem 2-3 VNTR stwierdzono wyższy o 80% stopień zaawansowania miażdżycy i wyższe ciśnienie tętna. Pacjenci charakteryzowali się także wyższym ciśnieniem tętniczym w porównaniu z genotypem 2-2 i 2-4 [99]. Dodatkowo Medley i wsp. u pacjentów ze stwierdzoną chorobą wieńcową wykazali związek genotypu 2-3 ze zwiększoną sztywnością aorty i ciśnieniem tętna oraz zaostrozonym stopniem choroby wieńcowej [100]. Jednocześnie w kolejnym dużym badaniu przeprowadzonym na populacji zdrowych osób bez stwierdzonej choroby sercowo-naczyniowej i bez współistniejących czynników ryzyka w wywiadzie nie wykazano żadnego związku wariantu polimorficznego VNTR ze sztywnością tętnic, ocenianą na podstawie PWV i wskaźnika wzmocnienia aortalnego (który jest miarą sztywności tętniczych naczyń obwodowych), po uwzględnieniu czynnika wieku, płci czy średniego ciśnienia tętniczego [101].

Mimo że związek polimorfizmu regionu intronowego genu *FBN1* ze zjawiskiem sztywnienia tętnic nie jest jasny, postuluje się, że może on wpływać na poziom ekspresji genu fibryliny-1 lub (ze względu na lokalizację w pobliżu końca 3' egzonu 28) na proces składania mRNA.

Wykazano występowanie polimorfizmu 5A/6A miejsca -1612 (rs3025058) promotora genu kodującego stromielizynę typu 1 (*MMP3*). Skutkiem tego polimorfizmu jest występowanie 3 genotypów: homozygoty 5A/5A i 6A/6A oraz heterozygoty 5A/6A. Stwierdzono, że allel 6A zwiększa powinowactwo wiązania się miejsca regulatorowego promotora genu z czynnikiem represyjnym ZBP-89, co powoduje obniżenie ekspresji genu *MMP3* [102]. To sugeruje, że polimorfizm 5A/6A ma związek z poziomem transkrypcji genu, a zatem z różnym poziomem *MMP-3* wśród 3 różnych genotypów. Ponieważ aktywność *MMP-3* wiąże się z degradacją białek nadających macierzy zewnątrzkomórkowej elastyczność (tj. proteoglikanów, lamininy i fibronektyny) oraz hydroлізуje wiązania poprzeczne włókien fibryliny [103], wydaje się zasadne, że polimorfizm genu *MMP3* jest związany z przebudową naczyń krwionośnych i procesem ich sztywnienia.

Medley i wsp. stwierdzili, że u pacjentów powyżej 61. rż. zwiększona sztywność aorty jest związana z genotypem 5A/5A i 6A/6A. Związek ten nie został jednak potwierdzony w populacji między 30. a 60. rż. [104]. W badaniu przekrojowym obejmującym 1111 osób między 27. a 77. rż. stwierdzono, że polimorfizm 5A/6A wpływa na wartość ciśnienia krwi. Homozygoty 5A/5A wykazywały wyższe wartości ciśnienia i związek ten pozostał silny po uwzględnieniu klasycznych czynników ryzyka. Prawdopodobne jest, że podwyższone wartości ciśnienia krwi u homozygot 5A/5A wiążą się z nasilonymi procesami degradacji elastyny w ścianie naczynia i ich sztywnieniem [105].

Metaloproteinaza *MMP-9* (gelatynaza B) degradowuje głównie kolagen IV. Wynikiem degradacji kolagenu IV jest zniszczenie fizycznej bariery uniemożliwiającej komórkom migrację, dzięki czemu możliwa staje się migracja leukocytów podczas stanów zapalnych, a następnie naciekanie makrofagów. Jest to jeden z etapów tworzenia się blaszek miażdżycowych, poprzedzający wychwycenie cholesterolu frakcji LDL i jego estryfikację przez makrofagi [106]. Metaloproteinaza-9 degradowuje również włókna elastyny w błonie podstawnej, biorąc udział w procesie przebudowy i sztywnienia naczynia krwionośnego [107].

Najszerzej jest badany polimorfizm w pozycji -1562C>T (rs3918242) znajdujący się w regionie

promotora genu *MMP9*. Dotychczas przeprowadzone badania wskazują, że polimorfizm ten wpływa na poziom ekspresji genu poprzez interakcję z jądrowymi czynnikami transkrypcyjnymi. Doświadczenia *in vitro* wykazały, że wariant polimorficzny -1562T wiąże się silniej z czynnikami transkrypcyjnymi, co zwiększa poziom ekspresji genu *MMP9* [108]. Ten sam efekt *in vivo* potwierdzili Medley i wsp., wykazując wyższe stężenie mRNA *MMP9*, samej metaloproteinazy-9 i nasilone skutki jej aktywności u nosicieli genotypu -1562T [109, 110].

Podobnie jak polimorfizm *MMP3* 5A/6A, polimorfizm *MMP9* -1562C>T jest związany ze sztywnieniem tętnic. Medley i wsp. udowodnili, że pacjenci z genotypem -1562T i z rozpoznaną chorobą wieńcową wykazują zwiększoną sztywność aorty, ocenianą na podstawie charakterystyki impedancji aorty. Związek ten pozostaje silny po uwzględnieniu czynnika wieku, płci, średniego ciśnienia krwi oraz pełnego profilu lipidowego. Co więcej, nosiciele allelu -1562T wykazują wyższe ciśnienie skurczowe mierzone na tętnicy ramiennej i szyjnej oraz wyższe ciśnienie tętna [100].

Yasmin i wsp. badali wpływ polimorfizmu 855A>G (rs17576) genu *MMP9* na zjawisko sztywnienia tętnic wśród zdrowej populacji mężczyzn i kobiet. Polimorfizm ten wpływa na zmianę sekwencji białkowej, prowadząc do substytucji aminokwasu argininy na glutaminę (Arg279Gln, 279R>Q). Genotypy 279Q (homozygoty QQ i heterozygoty QR) wykazywały wyższą aortalną prędkość tętna w porównaniu z homozygotą RR niezależnie od płci. Ponadto u osób z genotypem QQ stwierdzono najwyższe stężenie białka MMP-9 [111]. To sugeruje, że sztywnienie dużych naczyń u nosicieli genotypu 279Q powiązane jest ze zmożonymi procesami degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej tworzącej rusztowanie tętnicy.

Zarówno genotyp 279Q, jak i -1562T wykazują wyższe stężenie osoczowego MMP-9 i nasilone procesy degradacyjne elastyny, co przyczynia się do procesu sztywnienia tętnic. Ta obserwacja jest potencjalnym wyjaśnieniem zwiększonej aortalnej prędkości tętna u nosicieli allelu Q i T. Może to pomóc w diagnozie przedwczesnego sztywnienia tętnic oraz w przewidywaniu zwiększonego ryzyka naczyniowego.

### **Pogrubienie kompleksu *intima-media* (IMT)**

Do wczesnych powikłań nadciśnienia tętniczego zalicza się również pogrubienie błony środkowej i wewnętrznej (IMT) oraz zmniejszoną podatność tętnic (*distensibility*). Wyniki dotychcza-

sowych badań wskazują na istotne znaczenie rokownicze grubości kompleksu IMT w przewidywaniu rozwoju powikłań sercowo-naczyniowych. W świetle ukazujących się publikacji (np. *Cardiovascular Health Study*, *Arteriosclerosis Risk In Communities*, *Rotterdam Study*) coraz częściej uważa się, że pogrubienie błony środkowej i wewnętrznej poprzedza rozwój zmian miażdżycowych i jest czynnikiem rokowniczym wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych, przerostu mięśnia sercowego i albuminurii.

Znaczenie grubości IMT jako czynnika prognostycznego zostało podkreślone przez Europejskie Towarzystwo Nadciśnienia Tętniczego i Europejskie Towarzystwo Kardiologiczne, które zalecają pomiar IMT u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym, określając wielkość przekraczającą 0,9 mm lub obecność blaszki miażdżycowej jako objaw uszkodzenia narządowego [112].

Do tej pory wzięto pod uwagę co najmniej 140 genów kandydatów potencjalnie wpływających na grubość kompleksu IMT. Do najczęściej badanych należy polimorfizm genu apolipoproteiny E (*APOE*), enzymu konwertującego angiotensynę II (*ACE*) i reduktazy metylenotetrahydrofolianu (*MTHFR*) [113].

Gen *APOE* zlokalizowany na chromosomie 19 koduje apolipoproteinę E (apoE), występującą u człowieka w 3 postaciach kodowanych przez 3 różne układy alleli: apoE2 ( $\epsilon$ 2), apoE3 ( $\epsilon$ 3) i apoE4 ( $\epsilon$ 4). W egzonie 4 genu wyróżnia się dwa warianty polimorficzne zmieniające aminokwas cysteinę na argininę w łańcuchu białkowym, to znaczy polimorfizm 471T>C (rs429358) i 609C>T (rs7412). Poszczególne izoformy apoE kodowane przez układy alleli genu *APOE* wywierają różne efekty lipidowe i pozalipidowe. Mechanizmy lipidowe dotyczą wiązania się z receptorami LDL, a pozalipidowe obejmują wpływ na strukturę i funkcję śródbłonna, właściwości antyoksydacyjne, procesy zapalne i modyfikację układu krzepnięcia [114].

Układ alleli *APOE*  $\epsilon$ 4 charakteryzuje się obecnością alleli C w pozycji 471 i 609, co na poziomie białka skutkuje obecnością argininy w pozycji 112 i 158 łańcucha białkowego [115]. Udowodniono, że allel apoE2 jest związany z najmniejszym stężeniem LDL w osoczu, a allel apoE4 z największym, co wynika z siły wiązania z receptorami LDL. Ta obserwacja potwierdziła rolę apoE w patogenezie miażdżycy tętnic wieńcowych i szyjnych.

Stwierdzono także, że izoforma apoE4 mniej efektywnie chroni komórki przed skutkami stresu oksydacyjnego oraz wiąże się z nasilonym procesem zapalnym. Zaobserwowano, że genotyp *APOE*  $\epsilon$ 4

jest związany z największymi wartościami, a genotyp APOE  $\epsilon 2$  z najmniejszymi wartościami kompleksu IMT w porównaniu z genotypem APOE  $\epsilon 3$  [116]. Należy jednak zachować ostrożność w jednoznacznej ocenie wpływu polimorfizmu genu *APOE*, ponieważ w innych badaniach nie wykazano jego związku z grubością IMT [117]. Wyniki badań oceniających synergistyczny wpływ polimorfizmu 677C>T genu *MTHFR* i I/D genu *ACE* są niespójne. Jedynie w części badań wykazano związek pogrubionego kompleksu IMT u homozygot TT i nosicieli allelu D [116].

W podłożu genetycznym pogrubienia kompleksu IMT odgrywają również rolę geny zaangażowane w procesy przebudowy macierzy zewnątrzkomórkowej ściany naczynia, w procesy zakrzepowe, funkcjonowanie śródbłonka, system RAA, zapalenie, stres oksydacyjny oraz metabolizm lipidów i węglowodanów. Liao i wsp., analizując polimorfizmy 145 genów, wykazali związek między grubością kompleksu IMT tętnicy szyjnej wspólnej a następującymi polimorfizmami genów: aktywator plazminogenu (*PLAT*), trombospodyna-1 (*THBS1*), syntaza tlenu azotu (*NOS1*), P-selektyna (*SELP*), podjednostka  $\beta$  nabłonkowego kanału sodowego (*SCNN1B*), receptor chemokiny (*CXCL12*). Natomiast na grubość kompleksu IMT opuszki tętnicy szyjnej wpływał polimorfizm genu metaloproteinazy 12 i 3 (*MMP12*, *MMP3*), transformującego czynnika wzrostu (*TGFB2*), enzymu konwertującego angiotensynę II (*ACE*), reninę (*REN*), paraoksonazę-1 (*PON1*), cyklooksygenazę 2 (*COX2*) [118].

Zaobserwowano między innymi, że homozygoty DD *ACE*, charakteryzujące się największą aktywnością konwertazy angiotensyny II, wykazują zwiększoną grubość kompleksu IMT tętnicy szyjnej [119, 120]. Natomiast 3 niezależne grupy badawcze potwierdziły związek polimorfizmu genu *MMP3* 5A/6A z grubością kompleksu IMT. Genotyp 6A/6A charakteryzował się zwiększoną grubością kompleksu IMT w porównaniu z genotypem 5A/5A i 5A/6A [121, 122]. U homozygot 6A/6A stwierdzono także bardziej zaawansowany stopień miażdżycy tętnicy szyjnej i przypadków zwężenia ich światła [123]. W świetle tych danych należy rozważyć przykład tego polimorfizmu jako czynnika prognostycznego wystąpienia subklinicznych objawów zmian miażdżycowych.

Wyniki badań nad wpływem wariantów polimorficznych na grubość kompleksu IMT nie są jednoznaczne. Niezbędne są zatem dalsze badania oceniające wartość uwzględniania wariantów polimorficznych wymienionych genów w profilaktyce powikłań nadciśnienia tętniczego.

## Mikroalbuminuria

Wysokość ciśnienia tętniczego, długoletni przebieg choroby oraz czynniki genetyczne wpływają na zwiększone wydalanie białka z moczem. Mikroalbuminurię definiuje się jako dobowe wydalanie albumin z moczem w zakresie 30–300 mg/d.

Mikroalbuminuria obserwowana w pierwotnym nadciśnieniu tętniczym jest konsekwencją zwiększonego przesączania kłębuszkowego, co może wynikać z mechanizmów hemodynamicznych, czynnościowego lub strukturalnego uszkodzenia bariery kłębuszkowej. Można ją zatem określić jako nerkowy objaw uogólnionej dysfunkcji śródbłonka [124]. Jednocześnie albuminuria może stanowić czynnik ryzyka chorób sercowo-naczyniowych poprzez zaburzenie równowagi jonów metali wywołujących stres oksydacyjny. Zaburzeniom tym towarzyszy stymulacja adrenergiczna, ekspresja cytokin wraz z aktywacją procesów zapalnych i modulacją ekspresji cząsteczek adhezyjnych. Zmiany te dotyczą również śródbłonka naczyń ogólnoustrojowych, zwiększając tym samym ryzyko sercowo-naczyniowe [125].

Wydalanie albumin z moczem może wskazywać na wczesne stadium uszkodzenia narządów i stanowi wskaźnik predykcyjny ryzyka nerkowego i sercowo-naczyniowego. Potwierdzają to wyniki badań *Losartan Intervention For EndPoint Reduction In Hypertension* (LIFE), które wykazały największe ryzyko u pacjentów z dużym (na początku i po roku) wydalaniem albuminy w stosunku do kreatyniny w porcji moczu. Ryzyko wystąpienia poważnych powikłań sercowo-naczyniowych zwiększa się przy albuminurii 10 mg/g kreatyniny, niezależnie od współistniejącej cukrzycy, nadciśnienia tętniczego lub przewlekłej choroby nerek [126]. Mikroalbuminuria obserwowana przez dłuższy czas jest wskaźnikiem zwiększonego ryzyka zgonu oraz markerem kolejnych subklinicznych zmian narządowych. Obserwowano związek pogrubienia kompleksu IMT tętnicy szyjnej i przerostu lewej komory serca z nasileniem mikroalbuminurii [127].

Czynniki mające potencjalny wpływ na mikroalbuminurię obejmują zwiększoną aktywność układu RAA, procesy zapalne, czynniki środowiskowe (tj. otyłość, palenie tytoniu) czy wreszcie czynniki genetyczne. Zmniejszenie poziomu wydalania albuminy z moczem wiąże się ze zmniejszeniem późniejszego ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych i nerkowych [128], dlatego tak istotne jest poznanie czynników genetycznych warunkujących wystąpienie mikroalbuminurii.

Do najczęściej badanych czynników genetycznych wpływających na poziom wydalania albumin



należą warianty polimorficzne genów kodujących układ RAA i układ współczulny, peptydy natriuretyczne oraz geny, których produkty uczestniczą w procesach zapalnych, stresie oksydacyjnym, sygnalizacji wewnątrzkomórkowej, metabolizmie lipidów, przebudowie macierzy zewnątrzkomórkowej ściany naczyń czy w procesach zakrzepowych.

Wśród genów kodujących układ RAA szczególną uwagę zwraca polimorfizm I/D genu *ACE*, 704C>T genu *AGT*, 1166A>C genu *AGTR1* i -344C>T genu *CYP11B2* [129].

Angiotensyna II zwiększa ciśnienie wewnątrzkręgosłupowe, stymuluje proliferację komórek mezangium, a także sprzyja włóknieniu tkanki śródmiąższowej. Można więc założyć, że czynniki genetyczne wpływające na aktywność układu RAA będą wpływać także na przebieg chorób nerek.

Wykazano, że allel D genu *ACE* zwiększa ryzyko rozwoju nefropatii ciśnieniowej niezależnie od wartości ciśnienia krwi. Genotyp DD charakteryzuje się zwiększonym poziomem mikroalbuminurii w porównaniu z innymi genotypami, a ponadto wykazuje związek z wartościami ciśnienia krwi [130]. Wyniki te potwierdzono w badaniach prospektywnych, sugerując, że polimorfizm I/D *ACE* modyfikuje wpływ ciśnienia krwi na uszkodzenia nerek [131]. Wpływ wywierany na nerki przez genotyp DD może ulegać modulacji przez wpływ wariantów polimorficznych Gly460Trp  $\alpha$ -adducyny. Stwierdzono nasilony efekt genotypu DD w obecności allelu 460Gly [132].

W badaniu obejmującym 183 pacjentów z nadciśnieniem tętniczym wskazano na związek genotypu TT (polimorfizm 573C>T, rs5182) i AA (polimorfizm 1166A>C) genu kodującego *AGTR1* ze zmniejszonym wydalaniem albuminy z moczem [133]. Co więcej, wyniki badania Buraczyńskiej i wsp. wskazują na szybszą progresję przewlekłej choroby nerek u nosicieli genotypu CC *AGTR1* [134].

Polimorfizm A-6G (rs5051) genu kodującego angiotensynogen dotyczy regionu promotorowego, a przez to wpływa na poziom jego ekspresji [135]. Wyniki badań 3 letniego badania prospektywnego obejmującego pacjentów z nieleczonym wcześniej nadciśnieniem tętniczym wskazują, że genotyp AA przyspiesza ujawnienie się mikroalbuminurii i jej skutków. Efekt ten jest najprawdopodobniej powiązany jest ze zwiększonym stężeniem angiotensynogenu w osoczu, a w konsekwencji z zaburzoną gospodarką węglowodanową, prowadzącą do wzrostu stężenia glukozy we krwi [136].

Również układ współczulny odgrywa niezwykle istotną rolę w rozwoju nadciśnienia tętniczego, otyłości, insulinooporności, a w konsekwencji w etiopatologii powikłań narządowych nadciśnienia tętnicze-

go [137]. Nie jest więc zaskakujące, że Masuo i wsp. wykazali związek między podwyższonym poziomem noradrenaliny a polimorfizmem Arg16Gly (rs1042713) genu receptora adrenergicznego typu  $\beta_2$  (*ADRB2*) i wydolnością nerek. U nosicieli allelu 16Gly stwierdzono osłabioną reakcję rozkurczową naczyń w odpowiedzi na noradrenalinę, co powiązано ze zwiększoną internalizacją receptorów  $\beta_2$ -adrenergicznych, a także z szybszą progresją dysfunkcji nerek [138]. Kobayashi i wsp. badali z kolei warianty polimorficzne (różniące się liczbą powtórzeń AC) genu *ADM* kodującego adrenomedulinę. W wybranych populacjach potwierdzono związek polimorfizmu genu *ADM* z predyspozycją do nadciśnienia tętniczego i wystąpienia mikroalbuminurii [139]. Wynikało to z faktu, że niektóre odmiany polimorficzne (np. wariant z 19 powtórzeniami AC) upośledzają funkcję biologiczną adrenomeduliny, przez co następuje osłabienie działania wazodylatacyjnego, diuretycznego i natriuretycznego [140, 141].

W predyspozycji do rozwoju mikroalbuminurii, jako wczesnego powikłania narządowego nadciśnienia tętniczego, bierze się również pod uwagę warianty polimorficzne genu syntazy tlenu azotu (*NOS3*) oraz genu kalikreiny (*KLR*), wchodzącej w skład układu kalikreina–kinina [129].

---

## Podsumowanie

---

Większość cytowanych w tej pracy badań koncentrowała się na oznaczeniu pojedynczych polimorfizmów genów, których produkty mogą być potencjalnie zaangażowane w patofizjologię powikłań nadciśnienia tętniczego. Wydaje się jednak, że wystąpienie powikłań narządowych jest skutkiem współdziałania wielu genów, a nie jednego. Co więcej, analiza wyników wymienionych badań jest niejednokrotnie trudna i nie daje jednoznacznej informacji na temat wpływu polimorfizmów genetycznych na daną cechę. Wynika to z faktu, że każde badanie różni się doбором grupy pacjentów, kryteriami włączenia do badania, liczbą i rodzajem badanych wariantów polimorficznych genów.

Należy jednocześnie uświadomić sobie ograniczenia genomiki. W zakończonych w 2003 roku badaniach nad genomem człowieka wykazano, że zawiera on zaledwie 20–25 tys. genów kodujących białka, podczas gdy liczbę białek ocenia się na 200–400 tys.! [142]. Wynika to między innymi ze zjawiska potranskrypcyjnej regulacji ekspresji genów, w wyniku którego na matrycy jednej sekwencji genu może powstać wiele różnych białek. Biorąc pod uwagę, że temu procesowi ulega około 40–60% genów w komórce,



możliwe jest osiągnięcie niezwyklej złożoności białek w organizmie [143, 144]. Należy również uwzględnić fakt, że molekularne mechanizmy prowadzące do wystąpienia powikłań narządowych niejednokrotnie krzyżują się ze sobą i mogą wzajemnie nasilać swój przebieg.

Można mieć nadzieję, że powiązanie osiągnięć proteomiki (jako nauki zajmującej się badaniem struktury i funkcji białek) i genomiki pozwoli w przyszłości uzyskać kompletną informację na temat zarówno stanu zdrowia pacjenta, jak i stanu patologicznego jego organizmu. Zaletą tego podejścia jest to, że predyspozycje na zapadnięcie na daną chorobę będzie można wykryć na wiele lat przed wystąpieniem jej objawów. Może to zrewolucjonizować metody diagnostyki chorób, oceny ryzyka i prognozowania oraz wyboru terapii.

Podsumowując, ze względu na istotne znaczenie rokownicze rozwoju powikłań narządowych w przebiegu nadciśnienia tętniczego, poznanie ich genetycznego podłoża może mieć znaczący wpływ na ocenę wskazań do leczenia oraz wybór leków u chorych na nadciśnienie tętnicze. Do wprowadzenia programów profilaktycznych i skutecznego leczenia przyczynowego powikłań narządowych nadciśnienia tętniczego niezbędne jest jednak połączenie nowoczesnych metod diagnostycznych (zarówno biochemicznych, czynnościowych, jak i obrazowych) z analizą wariantów polimorficznych genów kodujących składniki układów, które biorą udział w patogenezie nadciśnienia tętniczego, oraz analizą proteomiczną.

## Streszczenie

Choroby układu krążenia są główną przyczyną zachorowalności, zgonów i inwalidztwa w rozwiniętych krajach świata. Najważniejszym czynnikiem ryzyka prowadzącym do rozwoju powikłań narządowych jest nadciśnienie tętnicze. Niniejszy artykuł jest poświęcony głównie powikłaniom naczyniowym (zaburzenia funkcji śródbłonna i przebudowa ściany tętnic) oraz mikroalbuminurii. W pracy opisano aktualny stan wiedzy o wpływie wybranych czynników genetycznych na predyspozycję do rozwoju powikłań nadciśnienia tętniczego. Czynniki te obejmują warianty polimorficzne genów kandydatów, zaangażowanych między innymi w regulację ciśnienia krwi, hemostazę, stres oksydacyjny i proces zapalny. Stwierdzenie predyspozycji genetycznej do rozwoju wczesnych powikłań sercowo-naczyniowych jest niezwykle istotnym czynnikiem ryzyka wystąpienia po-

ważniejszych powikłań — zawału serca czy udaru mózgu — i może zrewolucjonizować metody diagnostyki chorób, oceny ryzyka i prognozowania oraz wyboru terapii.

**słowa kluczowe:** nadciśnienie, polimorfizm genetyczny, markery genetyczne, dysfunkcja śródbłonna, przebudowa tętnic, albuminuria  
*Naciśnienie Tętnicze 2011, tom 15, nr 2, strony 125–142.*

## Piśmiennictwo

1. Kannel W.B. Risk stratification in hypertension: new insights from the Framingham Study. *Am. J. Hypertens.* 2000; 13 (1 cz. 2): 3S–10S.
2. Kannel W.B. Fifty years of Framingham Study contributions to understanding hypertension. *J. Hum. Hypertens.* 2000; 14 (2): 83–90.
3. Kunes J., Zicha J. The interaction of genetic and environmental factors in the etiology of hypertension. *Physiol. Res.* 2009; 58 (supl. 2): S33–S41.
4. Kuznetsova T., Staessen J.A., Brand E. i wsp. Sodium excretion as a modulator of genetic association with cardiovascular phenotypes in the European Project on Genes in Hypertension. *J. Hypertens.* 2006; 24 (2): 235–242.
5. Pasiński T., Grodzicki T. Podłoże genetyczne powikłań nadciśnienia tętniczego w układzie sercowo-naczyniowym. W: Ciechanowicz A., Januszewicz A., Januszewicz W., Rużyło W. (red.). *Genetyka chorób układu krążenia. Medycyna Praktyczna, Kraków 2002: 207–210.*
6. Ciechanowicz A. Molekularne podłoże nadciśnienia tętniczego — przegląd genów kandydatów. *Genetyka chorób układu krążenia. W: Ciechanowicz A., Januszewicz A., Januszewicz W., Rużyło W. (red.). Genetyka chorób układu krążenia. Medycyna Praktyczna, Kraków 2002: 191–198.*
7. Gryglewska B., Nęcki M., Grodzicki T. Mikrokrążenie a nadciśnienie tętnicze. *Naciśnienie Tętnicze 2001; 5 (4): 229–234.*
8. Lewartowski B. Budowa i funkcja naczyń w nadciśnieniu tętniczym. W: Januszewicz A., Januszewicz W., Szczepańska-Sadowska E., Sznajderman M. (red.). *Naciśnienie tętnicze. Medycyna Praktyczna, Kraków 2007; 159–170.*
9. Wnuczko K., Szczepański M. Śródbłonek — charakterystyka i funkcje. *Pol. Merk. Lek.* 2007; 23 (133): 60–65.
10. Sung K.C., Suh J.Y., Kim B.S. i wsp. High sensitivity C-reactive protein as an independent risk factor for essential hypertension. *Am. J. Hypertens.* 2003; 16 (6): 429–433.
11. Boos C.J., Lip G.Y. Is hypertension an inflammatory process? *Curr. Pharm. Des.* 2006; 12 (13): 1623–1635.
12. Kuklinska A.M., Mroczko B., Musiał W.J. i wsp. High-sensitivity C-reactive protein and total antioxidant status in patients with essential arterial hypertension and dyslipidemia. *Adv. Med. Sci.* 2009; 54 (2): 225–232.
13. Ridker P.M., Morrow D.A. C-reactive protein, inflammation, and coronary risk. *Cardiol. Clin.* 2003; 21 (13): 315–325.
14. Li J.J., Fang C.H. C-reactive protein is not only an inflammatory marker but also a direct cause of cardiovascular diseases. *Med. Hypotheses* 2004; 62 (4): 499–506.
15. Zhu X.Y., Daghini E., Chade A.R. i wsp. Role of oxidative stress in remodeling of the myocardial microcirculation in hypertension. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; 26 (8): 1746–1752.

16. Feletou M., Kohler R., Vanhoutte P.M. Endothelium-derived vasoactive factors and hypertension: possible roles in pathogenesis and as treatment targets. *Curr. Hypertens. Rep.* 2010; 12 (4): 267–275.
17. Luscher T.F. The endothelium in hypertension: bystander, target or mediator? *J. Hypertens.* 1994; 12 (10): S105–S116.
18. Martynowicz H., Skoczyńska A., Silber M., Andrzejczak R. Rola stresu oksydacyjnego w patogenezie nadciśnienia tętniczego. *Nadciśnienie Tętnicze* 2004; 8 (6): 431–438.
19. Xu S., Touyz R.M. Reactive oxygen species nad vascular remodelling in hypertension: still alive. *Can. J. Cardiol.* 2006;
20. Touyz R.M., Schiffrin E.L. Reactive oxygen species in vascular biology: implication in hypertension. *Histochem. Cell Biol.* 2004; 122 (4): 339–352.
21. Touyz R.M. Oxidative stress and vascular damage in hypertension. *Curr. Hypertens. Rep.* 2000; 2 (1): 98–105.
22. Chłopicki S. Śródbłonek w patogenezie i farmakoterapii powikłań miażdżycowych nadciśnienia tętniczego. W: Januszewicz A., Januszewicz W., Szczepańska-Sadowska E., Sznajderman M. (red.). *Nadciśnienie tętnicze. Medycyna Praktyczna, Kraków 2007; 263–274.*
23. Filipiak K.J., Opolski G. Genetyczne uwarunkowania czynności śródbłonna. *Genetyka chorób układu krążenia*. W: Ciechanowicz A., Januszewicz A., Januszewicz W., Rużyłło W. (red.). *Genetyka chorób układu krążenia. Medycyna Praktyczna, Kraków 2002; 55–62.*
24. Lechi C., Gaino S., Zuliani V. i wsp. Elevated plasma fibrinogen levels in patients with essential hypertension are related to vascular complications. *Int. Angiol.* 2003; 22 (1): 71–78.
25. Diamantopoulos E.J., Andreadis E.A., Vassilopoulos C.V. i wsp. Increased plasma plasminogen activator inhibitor-1 level: a possible marker of hypertensive target organ damage. *Clin. Exp. Hypertens.* 2003; 25 (1): 1–9.
26. Bujak R., Sinkiewicz W., Błażejowski J., Budzyński J., Żekanowska E. Tkankowy aktywator plazminogenu (t-PA) i jego inhibitor typu 1 (PAI-1) u chorych z ostrym zawałem serca. *Folia Cardiol.* 2002; 4: 311–318.
27. Grubic N., Stegnar M., Peternel P., Kaider A., Binder B.R. A novel G/A and the 4G/5G polymorphism within the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 gene in patients with deep vein thrombosis. *Thromb. Res.* 1996; 84 (6): 431–443.
28. Kucukarabaci B., Gunes H.V., Ozdemir G. i wsp. Investigation of association between plasminogen abctivator inhibitor type-1 (PAI-1) gene 4G/5G polymorphism frequency and plasma PAI-1 enzyme activity in patients with acute stroke. *Genet. Test.* 2008; 12 (3): 443–451.
29. Młynarska A., Waszyrowski T., Kasprzak J.D. Increase in plasma plasminogen activator inhibitor type 1 concentration after fibrinolytic treatment in patients with acute myocardial infarction is associated with 4G/5G polymorphism of PAI-1 gene. *J. Thromb. Haemos.* 2006; 4 (6): 1361–1366.
30. Anvari A., Schuster E., Gottsauner-Wolf M., Wojta J., Huber K. PAI-1 4G/5G polymorphism and sudden cardiac death in patients with coronary artery disease. *Thromb. Res.* 2001; 103 (2): 103–107.
31. Jastrzębska M., Widecka K., Ciechanowicz A. i wsp. Polimorfizmy 4G/5G genu inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI-1) oraz I/D genu enzymu konwertującego angiotensynę I (ACE) a aktywność fibrynolityczna u chorych z samoistnym nadciśnieniem tętniczym i dyslipidemią. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2005; 113 (1): 7–20.
32. Asselbergs F.W., Williams S.M., Herbert P.R. i wsp. Epistatic effects of polymorphisms in genes from the renin-angiotensin, bradykinin, and fibrinolytic systems on plasma t-PA and PAI-1 levels. *Genomics* 2007; 89: 362–369.
33. Zhao R., Ma X., Shen G.X. Transcriptional regulation of plasminogen activator inhibitor-1 vascular endothelial cells induced by oxidized very low density lipoproteins. *Mol. Cell Biochem.* 2008; 317 (1–2): 197–204.
34. Makris T.K., Stavroulakis G.A., Dafni U.G. i wsp. ACE/ DD genotype is associated with hemostasis balance disturbances reflecting hypercoagulability and endothelial dysfunction in patients with untreated hypertension. *Am. Heart* 2000; 140 (5): 760–765.
35. Vischer U.M. von Willebrand factor, endothelial dysfunction and cardiovascular disease. *J. Thromb. Haemos.* 2006; 4 (6): 1186–1193.
36. van Schie M.C., van Loon J.E., de Maat M.P., Leebeck F.W. Genetic determinants of von Willebrand factor levels and activity in relation to the risk of cardiovascular disease. *J. Tromb. Haemos.* 2011; 9 (5): 899–908.
37. Nakamura S., Nakamura I., Ma L., Vaughan D.E., Fogo A.B. Plasminogen activator inhibitor-1 expression is regulated by the aniotensin type 1 receptor in vivo. *Kidney* 2008; 58: 251–259.
38. Sekuri C., Cam F.S., Ercan E. i wsp. Renin-angiotensin system gene polymorphisms and premature coronary heart disease. *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2005; 6 (1): 38–42.
39. Steeds R.P., Wardle A., Smith P.D., Martin D., Channer K.S., Samani N.J. Analysis of the postulated interaction between the angiotensin II subtype 1 receptor gene A1166C polymorphism and the insertion/deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene on risk of myocardial infarction. *Atherosclerosis* 2001; 154 (1): 123–128.
40. Mansego M.L., De Marco Solar G., Alonso M.P. i wsp. Polymorphisms of antioxidant enzymes, blood pressure and risk of hypertension. *J. Hypertens.* 2011; 24: 492–500.
41. Heltianu C., Costche G., Gafencu A. i wsp. Relationship of eNOS gene variants to diseases that have in common an endothelial cell dysfunction. *J. Cell Mol. Med.* 2005; 9 (1): 135–142.
42. Zintzaras E., Kitsios G., Stefanidas I. Endothelial NO synthase gene polymorphisms and hypertension: a meta-analysis. *Hypertension* 2006; 48 (7): 700–710.
43. Fairchild T.A., Fulton D., Fontana J.T., Gratton J.P., McCabe T.J., Sessa W.C. Acidic hydrolysis as a mechanism for the cleavage of the Glu(298)->Asp variant of human endothelial nitric-oxide synthase. *J. Biol. Chem.* 2001; 276 (28): 26 674–26 679.
44. Salimi S., Firoozrai M., Zand H. i wsp. Endothelial nitric oxide synthase gene Glu298Asp polymorphism in patients with coronary artery disease. *Ann. Saudi Med.* 2010; 30 (1): 33–37.
45. Nakayama M., Yause H., Yoshimura M. i wsp. T-786->C mutation in the 5' flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm. *Circulation* 1999; 89 (22): 2864–2870.
46. Jemaa R., Kallel A., Sedri Y. i wsp. Association between -786TC polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene and hypertension in the Tunesian population. *Exp. Mol. Pathol.* 2011; 90 (2): 210–214.

47. Negrao M.V., Alves C.R., Alves G.B. i wsp. Exercise training improves muscle vasodilation in individuals with T786C polymorphism of endothelial nitric oxide synthase gene. *Physiol. Genomics* 2010; 42A (1): 71–77.
48. Fatini C., Sofi F., Genisini F. i wsp. Influence of eNOS gene polymorphisms on carotid atherosclerosis. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2004; 27 (5): 540–544.
49. Tsukada T., Yokoyama K., Arai T. i wsp. Evidence of association of the eNOS gene polymorphism with plasma NO metabolite levels in humans. *Biochem. Biophysiol. Res. Commun.* 1998; 245 (1): 190–193.
50. Mehrab-Mohseni M., Tabatabaei-Malazy O., Hasani-Ranjbar S. i wsp. Endothelial nitric oxide synthase VNTR (intron 4 a/b) polymorphism association with type 2 diabetes and its chronic complication. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2011; 91 (3): 348–352.
51. Banecka-Majkutewicz Z., Gąsecki D., Jakóbkiewicz-Banecka J., Banecki B., Węgrzyn G., Nyka W.M. Hiperhomocysteinemia — ważny czynnik ryzyka udaru mózgu. *Udar Mózgu* 2005; 7 (2): 61–65.
52. Krackowska S., Suchocka Z., Pachecka J. Podwyższone stężenie homocysteiny we krwi jako wskaźnik zagrożenia zdrowia. *Biul. Wydz. Farm. WUM.* 2005; 3: 19–24.
53. Palko-Labuz A., Sadkierska-Chudy A., Pilecki W. The genetic background of thrombosis — the distribution of factor V Leiden, prothrombin G20210A and MTHFR C677T polymorphism. *Adv. Clin. Exp. Med.* 2010; 19 (1): 51–55.
54. Laurent S., Cockcroft J., Van Bortel L. i wsp. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical application. *Eur. Heart J.* 2006; 27 (21): 2588–2605.
55. Kass D.A. Age-related changes in ventricular-arterial coupling: pathophysiological implications. *Heart Fail. Rev.* 2002; 7 (1): 51–62.
56. Tomiyama H., Arai T., Koji Y. i wsp. The age-related increase in arterial stiffness in augmented in phases according to the severity of hypertension. *Hypertens. Res.* 2004; 27 (7): 465–470.
57. Pędzich E., Szmigielski C., Gaciong Z. Ciśnienie centralne jako wskaźnik ryzyka powikłań sercowo-naczyniowych. *Naciśnienie Tętnicze* 2006; 10 (5): 341–349.
58. Jankowski P., Kawecka-Jaszcz K. Central blood pressure and cardiovascular risk. *J. Hypertens.* 2009; 27 (8): 1713.
59. Rajzer M., Kawecka-Jaszcz K. Podatność tętnic w naciśnieniu tętniczym. Od patofizjologii do znaczenia klinicznego. *Naciśnienie Tętnicze* 2002; 6 (1): 61–73.
60. Cwynar M., Wojciechowska W., Kawecka-Jaszcz K., Grodzicki T. Mechanizmy przebudowy dużych naczyń tętniczych. *Przegląd Lekarski* 2002; 59 (supl. 3): 1–8.
61. Laurent S., Boutouyrie P., Lacolley P. Structural and genetic bases of arterial stiffness. *Hypertension* 2005; 45 (6): 1050–1055.
62. Kubalski P., Manitiu J. Sztywność tętnic, ciśnienie centralne, współczynnik wzmocnienia — kompendium nie tylko dla hipertensjologa. *Choroby Serca i Naczyń* 2008; 5 (2): 61–67.
63. Laurent S. Naciśnienie tętnicze i choroba dużych naczyń. *Choroby Serca i Naczyń* 2007; 4 (3): 113–116.
64. Trzebski A. Odruchowa regulacja krążenia krwi w naciśnieniu tętniczym. W: Januszewicz A., Januszewicz W., Szczepańska-Sadowska E., Sznajderman M. (red.). *Naciśnienie tętnicze. Medycyna Praktyczna, Kraków* 2007; 171–198.
65. Vastagh I., Horvath T., Nagy G. i wsp. Evolution and predictors of morphological and functional arterial changes in the course of type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2010; 26 (8): 646–655.
66. Scallan C., Doonan R.J., Daskalopoulou S.S. The combined effect of hypertension and smoking on arterial stiffness. *Clin. Exp. Hypertens.* 2010; 32 (6): 319–328.
67. Doonan R.J., Hausvater A., Scallan C., Mikhailidis D.P., Pilote L., Daskalopoulou S.S. The effect of smoking on arterial stiffness. *Hypertens. Res.* 2010; 33 (5): 398–410.
68. Wilkinson I., Cockcroft J.R. Cholesterol, lipids and arterial stiffness. *Adv. Cardiol.* 2007; 44: 261–277.
69. Kingwell B., Boutouyrie P. Genetic influences on the arterial wall. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2007; 34 (7): 652–657.
70. Szczepańska-Sadowska E., Cudnoch-Jędrzejewska A. Układ renina-angiotensyna-aldosteron — główny układ hormonalny w rozwoju naciśnienia tętniczego. W: Januszewicz A., Januszewicz W., Szczepańska-Sadowska E., Sznajderman M. (red.). *Naciśnienie Tętnicze. Medycyna Praktyczna, Kraków* 2007; 199–222.
71. Bozec E., Lacolley P., Bergaya S. i wsp. Arterial stiffness and angiotensinogen gene in hypertensive patients and mutant mice. *J. Hypertens.* 2004; 22 (7): 1299–1307.
72. Baker M., Rahman T., Hall D. i wsp. The C-532T polymorphism of the angiotensinogen gene is associated with pulse pressure: a possible explanation for heterogeneity in genetic association studies of AGT and hypertension. *Int. J. Epidemiol.* 2007; 36 (6): 1356–1362.
73. Bentos A., Gautier S., Ricard S. i wsp. Influence of angiotensin-converting enzyme and angiotensin II type I receptor gene polymorphisms on aortic stiffness in normotensive and hypertensive patients. *Circulation* 1996; 94: 698–703.
74. Rehman A., Rasool A.H.G., Naing L., Roshan T.M., Rahman A.R.A. Influence of the angiotensin II type I receptor gene 1166A>C polymorphism on BP and aortic pulse wave velocity among Malays. *Ann. Hum. Genet.* 2007; 71 (1): 860–895.
75. Lajemi M., Labat C., Gautier S. i wsp. Angiotensin II type I receptor-153A/G and 1166A/C gene polymorphisms and increase in aortic stiffness with age in hypertensive subjects. *J. Hypertens.* 2001; 19 (3): 407–413.
76. Nurnberger J., Opazo Saez A., Mitchell A. i wsp. The T-allele of the C825T polymorphism is associated with higher arterial stiffness in young healthy males. *J. Hum. Hypertens.* 2004; 18 (4): 267–271.
77. Olszanecka A., Kawecka-Jaszcz K., Stolarz K. i wsp. Polimorfizm podjednostki  $\beta 3$  białka G a ciśnienie tętnicze i struktura i funkcja naczyń krwionośnych. *Naciśnienie Tętnicze* 2004; 8 (2): 119–131.
78. Bentos A., Gautier S., Ricard S. i wsp. Influence of angiotensin-converting enzyme and angiotensin II type I receptor gene polymorphism on aortic stiffness in normotensive and hypertensive patients. *Circulation* 1996; 94: 698–703.
79. Dima I., Vlachopoulos C., Alexopoulos N. i wsp. Association of arterial stiffness with angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in healthy individuals. *Am. J. Hypertens.* 2008; 12: 1354–1358.
80. Cwynar M., Wojciechowska W., Stolarz K. Wpływ interakcji polimorfizmów G-6A genu AGT, D/I genu ACE oraz A1166C genu AGTR1 na ciśnienie tętnicze oraz na parametry usztywnienia tętnic. *Naciśnienie Tętnicze* 2007; 11 (2): 95–105.
81. Taniwaki H., Kawagishi T., Emoto M. i wsp. Association of ACE gene polymorphism with arterial stiffness in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22 (11): 1858–1864.



82. Mattace-Raso F.U., van der Cammen T.J., Sayed-Tabatabaei F.A. i wsp. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and common carotid stiffness. *The Rotterdam Study. Atherosclerosis* 2004; 174 (1): 121–126.
83. Sie M.P., Yazdanpanah M., Mattace-Raso F.U. i wsp. Genetic variation in the renin-angiotensin system and arterial stiffness. *The Rotterdam Study. Clin. Exp. Hypertens.* 2009; 31 (5): 389–399.
84. Zhang H., Thijs L., Kuznetsova T., Fagard R.H., Li X., Staessen J.A. Progression to hypertension in the non-hypertensive participants in the Flemish Study on Environment, Genes and Health Outcomes. *J. Hypertens.* 2006; 24 (9): 1719–1727.
85. Seidlerova J. Adducin and its relation to cardiovascular system. *Artery Res.* 2010; 4 (4): 134–137.
86. Balkestein E.J., Wang J.G., Struijker-Boudier H.A. i wsp. Carotid and femoral intima-media thickness in relation to three candidate genes in a Caucasian population. *J. Hypertens.* 2002; 20 (8): 1551–1561.
87. Pojoga L., Gautier S., Blanc H. i wsp. Genetic determination of plasma aldosterone levels in essential hypertension. *Am. J. Hypertens.* 1998; 11 (7): 856–860.
88. Wojciechowska W., Staessen J.A., Stolarz K. i wsp. Association of peripheral and central arterial wave reflections with the CYP11B2-344C allele and sodium excretion. *J. Hypertens.* 2004; 22 (12): 2311–2319.
89. Safar M.E., Cattan V., Lacolley P. i wsp. Aldosterone synthase gene polymorphism, stroke volume and age-related changes in aortic pulse wave velocity in subjects with hypertension. *J. Hypertens.* 2005; 23: 1159–1166.
90. Blacher J., Kakou K., Lacombe J.-M., Safar M.E. Preferential association of aldosterone synthase gene polymorphism with central blood pressure and wave reflection in hypertensive individuals. *J. Hum. Hypertens.* 2010; 24: 291–299.
91. Wojciechowska W., Cwynar M., Stolarz-Skrzypek K. i wsp. Związek polimorfizmu genów syntazy aldosteronu i  $\alpha$  adducyny ze zmiennością ciśnienia tętniczego (SBPM). *Nadciśnienie Tętnicze* 2007; 11 (2): 53–59.
92. Lipka D., Boratyński J. Metaloproteiny MMP. Struktura i ich funkcja. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 2008; 62: 328–336.
93. Sternlicht M.D., Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2001; 17: 4663–4516.
94. Santos-Martinez M.J., Medina C., Jurasz P., Radomski M.W. Role of metalloproteinases in platelet function. *Thromb. Res.* 2008; 121 (4): 535–542.
95. Mulvany M.J., Baumbach G.L., Aalkjaer C. i wsp. Vascular remodeling. *Hypertension* 1996; 28: 505–506.
96. De Mey J.G., Schiffers P.M., Hilgers R.H., Sanders M.M. Toward functional genomics of flow-induced outward remodeling of resistance arteries. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2005; 288 (3): H1022–H1027.
97. Lee H.Y., Oh B.H. Aging and arterial stiffness. *Circ. J.* 2010; 74 (11): 2257–2262.
98. Briones A.M., Arribas S.M., Salices M. Role of extracellular matrix in vascular remodeling of hypertension. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2010; 19 (2): 187–194.
99. Powell J.T., Turner R.J., Sian M., Debasso R., Lanne T. Influence of fibrillin-1 genotype on the aortic stiffness in men. *J. Appl. Physiol.* 2005; 99: 1036–1040.
100. Medley T.L., Cole T.J., Gatzka C.D., Wang W.Y., Dart A.M., Kingwell B.A. Fibrillin-1 genotype is associated with aortic stiffness and disease severity in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2002; 105: 810–815.
101. Yasmin, O'Shaughnessy K.M., McEniery C.M., Cockcroft J.R., Wilkinson I.B. Genetic variation in fibrillin-1 gene is not associated with arterial stiffness in apparently healthy individuals. *J. Hypertens.* 2006; 24: 499–502.
102. Zhu C., Odeberg J., Hamsten A., Eriksson P. Allele-specific MMP-3 transcription under in vivo conditions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006; 348 (3): 1150–1156.
103. Bini A., Itoh Y., Kudryk B.J., Nagase H. Degradation of cross-linked fibrin by matrix metalloproteinase 3 (stromelysin 1): hydrolysis of the gamma Gly 404-Ala 405 peptide bond. *Biochemistry* 1996; 35: 13 056–13 063.
104. Medley T.L., Kingwell B.A., Gatzka C.D., Pillay P., Cole T.J. Matrix metalloproteinase-3 genotype contributes to age-related aortic stiffening through modulation of gene and protein expression. *Circ. Res.* 2003; 92 (11): 1254–1261.
105. Beilby J.P., Chapman C.M., Palmer L.J., McQuillan B.M., Thompson P.L., Hung J. Stromelysin-1 (MMP-3) gene 5A/6A promoter polymorphism is associated with blood pressure in a community population. *J. Hypertens.* 2005; 23 (3): 537–542.
106. Galis Z.S., Johnson C., Godin D. i wsp. Target disruption of the matrix metalloproteinase-9 gene impairs smooth muscle cell migration and geometrical arterial remodeling. *Circ. Res.* 2002; 91 (9): 852–859.
107. Yasmin, Wallace S., McEniery C.M., Dakham Z., Puskas P., Maki-Peteja K. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), MMP-2 and serum elastase activity are associated with systolic hypertension and arterial stiffness. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005; 25: 371–373.
108. Zhang B., Ye S., Herrmann S.M. i wsp. Functional polymorphism in the regulatory region of gelatinase B gene in relation to severity of coronary atherosclerosis. *Circulation* 1999; 99 (14): 1788–1794.
109. Medley T.L., Cole T.J., Dart A.M., Gatzka C.D., Kingwell B.A. Matrix metalloproteinase-9 genotype influences large artery stiffness through effects on aortic gene and protein expression. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004; 24: 1479–1484.
110. Blankenberg S., Rupprecht H.J., Poirier O. i wsp. Plasma concentrations and genetic variation of matrix metalloproteinase 9 and prognosis of patients with cardiovascular disease. *Circulation* 2003; 107: 1578–1585.
111. Yasmin, McEniery C.M., O'Shaughnessy K.M. i wsp. Variation in the human matrix metalloproteinase-9 gene is associated with arterial stiffness in healthy individuals. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; 26: 1799–1805.
112. 2007 guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur. Heart J.* 2007; 28: 1462–1536.
113. Paternoster L., Martinez-Gonzales N.A., Charleton R. i wsp. Genetic effects on carotid intima-media thickness (Systematic assessment and meta-analyses of candidate gene polymorphism studies in more than 5000 subjects). *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2010; 3 (1): 15–21.
114. Jofre-Monseny L., Minihane A.M., Rimbach G. Impact of apoE genotype on oxidative stress, inflammation and disease risk. *Mol. Nutr. Food Res.* 2008; 52 (1): 131–145.

115. Nyholt D.R., Yu C.E., Visscher P.M. On Jim Watson's APOE status: genetic information is hard to hide. *Eur. J. Hum. Genet.* 2009; 17 (2): 147–149.
116. Manolio T.A., Boerwinkle E., O'Donnell C.J., Wilson A.F. Genetics of ultrasonographic carotid atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004; 24: 1567–1577.
117. Alioglu E., Turk U., Cam S. i wsp. Polymorphisms of the methylenetetrahydrofolate reductase, vascular endothelial growth factor, endothelial nitric oxide synthase, monocyte chemoattractant protein-1 and apolipoprotein E genes are not associated with carotid intima-media thickness. *Can. J. Cardiol.* 2009; 25 (1): e1–e5.
118. Liao Y.C., Lin H.F., Rundek T. i wsp. Segment-specific genetic effects on carotid intima-media thickness (The Northern Manhattan Study). *Stroke* 2008; 39 (12): 3159–3165.
119. Bonithon-Kopp C., Ducimetiere P., Touboul P.J. i wsp. Plasma angiotensin-converting enzyme activity and carotid wall thickening. *Circulation* 1994; 89: 952–954.
120. Castellano M., Mulesan M.L., Rizzoni D. i wsp. Angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism and arterial wall thickness in general population: the Vobarno study. *Circulation* 1995; 91: 2721–2724.
121. Rundek T., Elkind M.S., Pittman J. i wsp. Carotid intima-media thickness is associated with allelic variants of stromelysin-1, interleukin-6 and hepatic lipase genes: the Northern Manhattan Prospective Cohort Study. *Stroke* 2002; 33 (5): 1420–1423.
122. Armstrong C., Abilleira S., Sotzer M., Markus H.S., Bevan S. Polymorphism in MMP family and TIMP genes and carotid artery intima-media thickness. *Stroke* 2007; 38 (11): 2895–2899.
123. Ghilardi G., Biondi M.L., DeMonti M., Turri O., Guagnellini E., Scorza R. Matrix metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinase-3 gene promoter polymorphisms are associated with carotid artery stenosis. *Stroke* 2004; 33: 2408–2412.
124. Futrakul N., Sridama V., Futrakul P. Microalbuminuria — a biomarker of renal microvascular disease. *Ren. Fail.* 2009; 31 (2): 140–143.
125. Lewandowicz A. Mikroalbuminuria — wciąż fascynujące zagadnienie. *Kardiologia na co Dzień* 2009; 4 (1): 3–8.
126. Wachtell K., Ibsen H., Olsen M.H. i wsp. Albuminuria and cardiovascular risk in hypertensive patients with left ventricular hypertrophy: the LIFE study. *Ann. Intern. Med.* 2003; 139: 901–906.
127. Redon J., Martinez F., Pascual J.M. Mikroalbuminuria w samoistnym naciśnieniu tętniczym. *Choroby Serca i Naczyń* 2008; 5 (3): 121–124.
128. Redon J., Pascual J.M. Development of microalbuminuria in essential hypertension. *Curr. Hypertens. Rep.* 2006; 8 (2): 171–177.
129. Martinez F., Mansego M.L., Chaves F.J., Redon J. Genetic bases of urinary albumin excretion and related traits in hypertension. *J. Hypertens.* 2010; 28: 213–225.
130. Rovira E., Chaves F.J., Julve R. i wsp. Insertion/deletion polymorphism of the gene encoding for angiotensin-converting enzyme and microalbuminuria in essential arterial hypertension. *Med. Clin.* 1999; 112 (19): 726–730.
131. Redon J., Chaves F.J., Liao Y. i wsp. Influence of the I/D polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene on the outcome of microalbuminuria in essential hypertension. *Hypertension* 2000; 35 (1 cz. 2): 490–495.
132. Pedrinelli R., Dell'Omo G., Penno G. i wsp. Alpha-adducin and angiotensin-converting enzyme polymorphisms in hypertension: evidence for a joint influence on albuminuria. *J. Hypertens.* 2006; 24 (5): 931–937.
133. Chaves F.J., Pascual J.M., Rovira E., Armengod M.E., Redon J. Angiotensin II AT1 receptor gene polymorphism and microalbuminuria in essential hypertension. *Am. J. Hypertens.* 2001; 14 (4 cz. 1): 364–370.
134. Buraczynska M., Ksiazek P., Drop A., Zaluska W., Spasiewicz D., Ksiazek A. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system in end-stage renal disease. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2006; 21 (4): 979–983.
135. Ishigami T., Umemura S., Tamura K. i wsp. Essential hypertension and 5'up-stream core promoter region of human angiotensinogen gene. *Hypertension* 1997; 30: 1325–1330.
136. Marin P., Julve R., Chaves F.J. i wsp. Polymorphisms of the angiotensinogen gene and the outcome of microalbuminuria in essential hypertension: a 3-year follow-up study. *J. Hum. Hypertens.* 2004; 18 (1): 25–31.
137. Pereira A.C., Floriano M.S., Mota G.F. i wsp. Beta2 adrenoceptor functional gene variants, obesity and blood pressure level interactions in the general population. *Hypertension* 2003; 42 (4): 685–692.
138. Masuo K., Katsuya T., Sugimoto K. i wsp. High plasma norepinephrine levels associated with beta2-adrenoceptor polymorphisms predict future renal damage in nonobese normotensive individuals. *Hypertens. Res.* 2007; 30 (6): 503–511.
139. Kobayashi Y., Nakayama T., Sato N., Izumi Y., Kokubun S., Soma M. Haplotype-based case-control study revealing an association between the adrenomedullin gene and proteinuria in subjects with essential hypertension. *Hypertens. Res.* 2005; 28 (3): 229–236.
140. Baltyn J., Soldacki D., Zygiel M., Filipiak K.J. Adrenomedulina — spojrzenie z perspektywy 10 lat od jej odkrycia. *Kardiologia po Dyplomie* 2003; 2 (5): 111.
141. Ishimitsu T., Ono H., Minami J., Matsuoka H. Pathophysiologic and therapeutic implications of adrenomedullin in cardiovascular disorders. *Pharmacol. Ther.* 2006; 111 (3): 909–927.
142. Collins F.S., Morgan M., Patrinos A. The Human Genome Project: lessons from large-scale biology. *Science* 2003; 300 (5617): 286–290.
143. Luco R.F., Allo M., Schor I.E., Kornbliht A.R., Misteli T. Epigenetics in alternative pre-mRNA splicing. *Cell* 2011; 144 (1): 16–26.
144. Hui J. Regulation of mammalian pre-mRNA splicing. *Sci. China C. Life Sci.* 2009; 52 (3): 253–260.