

Wojciech Lubaszewski<sup>1</sup>, Katarzyna Stolarz<sup>1</sup>,  
Agnieszka Olszanecka<sup>1</sup>, Agata Jabrocka<sup>2</sup>, Beata Kieć-Wilk<sup>2</sup>,  
Aldona Dembińska-Kieć<sup>2</sup>, Kalina Kawecka-Jaszcz<sup>1</sup>

PRACA ORYGINALNA

<sup>1</sup> *Klinika Kardiologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie*<sup>2</sup> *Katedra Biochemii Klinicznej Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie*

# Polimorfizm *HindIII* genu lipazy lipoproteinowej a ciśnienie tętnicze, dane antropometryczne, struktura tętnic szyjnych i wybrane parametry gospodarki węglowodanowo-lipidowej — badanie rodzin

## *HindIII* polymorphism of the lipoprotein lipase gene and blood pressure, anthropometric measurements, carotid artery structure and selected indices of the metabolism of glucose and lipids — family study

### Summary

**Background** The prevalence of the metabolic syndrome, which includes essential hypertension, is continuously increasing. The aim of the study was to evaluate the influence of the lipoprotein lipase (LPL) gene *HindIII* polymorphism on blood pressure (BP), obesity, fasting glucose and lipoprotein profile, as well as carotid intima-media thickness (IMT) in the cohort of Polish families.

**Material and methods** We genotyped 326 subjects, members of 86 nuclear families, enrolled in the population-based study, for the *HindIII* polymorphism of the LLP gene. We excluded from this analysis 15 subjects with diabetes mellitus. Remaining 311 persons underwent conventional BP measurement during two separate home visits, 5 times on each visit. Anthropometric data were

collected with standardized protocol. Peripheral blood was sampled in fasting subjects for routine biochemistry, including glucose and lipoprotein profile. Carotid IMT measured by carotid ultrasound was used as an index of atherosclerosis.

**Results** Genotype frequencies were 55.0% for +/+, 36.7% for +/- and 8.3% for -/-, and did not deviate from the Hardy-Weinberg equilibrium ( $p = 0.44$ ). Among parents (mean age: 50.7 years) -/- homozygotes as compared to (+) allele carriers showed increased body mass index (31.6 vs. 28.0 kg/m<sup>2</sup>;  $p = 0.01$ ) and increased total cholesterol (6.23 vs. 5.56 mmol/l;  $p = 0.05$ ). Parents homozygous for (-) allele presented also tendency towards higher levels of LDL cholesterol (3.92 vs. 3.29 mmol/l;  $p = 0.06$ ) and carotid IMT (0.87 vs. 0.71 mm;  $p = 0.09$ ). In offspring generation (mean age: 24.1 years), carrying of (-) allele resulted in higher fasting glucose (4.48 vs. 4.12 mmol/l;  $p = 0.003$ ), total cholesterol (4.71 vs. 4.37 mmol/l;  $p = 0.01$ ) and LDL cholesterol (2.58 vs. 2.33 mmol/l;  $p = 0.04$ ). In quantitative transmission disequilibrium test, *HindIII* polymorphism of LPL mainly influenced fasting glucose levels ( $\chi^2 = 6.62$ ,  $p = 0.01$ ).

**Conclusions** *HindIII* polymorphism of the lipoprotein lipase gene influences lipids metabolism in both genera-

Adres do korespondencji: dr med. Wojciech Lubaszewski  
I Klinika Kardiologii, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego  
ul. Kopernika 17, 31-501 Kraków  
tel.: (012) 424-73-00; faks: (012) 424-73-20  
e-mail: wlubaszewski@su.krakow.pl

 Copyright © 2005 Via Medica, ISSN 1428-5851

Badanie przeprowadzono w populacji objętej programem *European Project on Genes in Hypertension* (EPOGH), finansowanym przez Unię Europejską (nr kontraktu IC15-CT98-0329-EPOGH).

tions and in offspring generation also glucose metabolism. In parents generation, it is also related to obesity and increased carotid IMT.

**key words:** blood pressure, carotid intima-media thickness, metabolic syndrome, lipoprotein lipase, polymorphism  
*Arterial Hypertension 2005, vol. 9, no 1, pages 11–21.*

---

## Wstęp

Naciśnienie tętnicze stanowi jeden z najważniejszych problemów współczesnej medycyny, co wynika z jego rozpowszechnienia i następstw, jakie powoduje w układzie sercowo-naczyniowym. Naciśnienie jest jednym z głównych czynników sprzyjających rozwojowi miażdżycy, która leży u podłoża choroby wieńcowej, zawału serca, udaru mózgu czy chorób naczyń obwodowych.

Naciśnienie rzadko jest zaburzeniem izolowanym. U większości pacjentów występuje wraz z innymi czynnikami ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, często przyczynowo związanymi z rozwojem naciśnienia. Wśród nich jako najważniejsze należy wymienić otyłość, insulinooporność, podwyższone stężenie cholesterolu całkowitego, obniżone stężenie cholesterolu frakcji HDL i podwyższone stężenie triglicerydów. Gdy powiązane metabolicznie wymienione czynniki ryzyka występują razem, określa się je jako „metaboliczny zespół X”, który stanowi połączenie wybitnie miażdżycorodne [1, 2]. Lista czynników wchodzących w skład zespołu metabolicznego wciąż nie jest ostatecznie zamknięta.

Najważniejszym czynnikiem predysponującym daną osobę do wystąpienia naciśnienia tętniczego jest pozytywny wywiad rodzinny w tym kierunku. Częstość naciśnienia tętniczego u osób obciążonych rodzinnie tą chorobą jest blisko 3-krotnie większa w porównaniu z resztą populacji [3]. Ponadto, osoby obciążone rodzinnym występowaniem naciśnienia tętniczego różnią się od rówieśników niemających rodzinnej predyspozycji do tej choroby wyższym wskaźnikiem sercowym oraz częstszym występowaniem zaburzeń gospodarki lipidowo-węglowodanowej [4].

Śródłonkowa lipaza lipoproteinowa (LPL, *lipoprotein lipase*) jest kluczowym enzymem w metabolizmie bogatych w triglicerydy frakcji lipoprotein. Katalizuje hydrolizę triglicerydów zawartych w chylomikronach oraz lipoproteinach o bardzo niskiej gęstości (VLDL, *very low density lipoprotein*). Lipaza lipoproteinowa jest enzymem wielofunkcyjnym, może bowiem również służyć jako ligand dla białek związanych z frakcją LDL i wpływać na wątrobową sekrecję

i wychwyt cholesterolu frakcji LDL i VLDL [5]. Rzadkie mutacje genetyczne w obrębie LPL prowadzą do istotnych dyslipidemii, które z kolei są związane z przedwczesnym rozwojem miażdżycy [6]. Wykazano ponadto, że niższy poziom aktywności LPL prowadzi do większego nasilenia choroby wieńcowej [7]. Gen kodujący LPL znajduje się na chromosomie 8p22 [8], a w jego obrębie opisano kilka regionów polimorficznych, między innymi polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych *HindIII* [9]. Zamiana tyminy (T) na guaninę (G) w pozycji +495 w obrębie intronu 8 znosi możliwość rozpoznania tego miejsca przez enzym restrykcyjny *HindIII* [9]. Z uwagi na rolę LPL w gospodarce lipidowej, polimorfizm *HindIII* w obrębie genu LPL może wpływać na zaburzenia metaboliczne i pośrednio na rozwój naciśnienia tętniczego.

W niniejszym badaniu rodzin, wybranych losowo z populacji ogólnej, oceniano związek pomiędzy polimorfizmem *HindIII* genu lipazy lipoproteinowej a ciśnieniem tętniczym, wskaźnikami antropometrycznymi, wybranymi parametrami biochemicznymi oraz wielkością kompleksu błona wewnętrzna-błona środkowa (IMT, *intima-media thickness*) tętnicy szyjnej wspólnej.

---

## Material i metody

### Metody epidemiologiczne

Badania przeprowadzono w populacji objętej programem *European Project on Genes in Hypertension* (EPOGH) [10]. Metody epidemiologiczne wykorzystane w projekcie EPOGH zostały uprzednio szczegółowo opisane [10, 11]. Dodatkowo, poza standardowym protokołem u uczestników polskiej części programu wykonano pomiary naczyniowe oraz genotypowanie populacji dla polimorfizmu *HindIII* genu LPL. Badanie uzyskało zgodę Komisji Bioetycznej *Collegium Medicum* Uniwersytetu Jagiellońskiego. Uczestnicy badania wyrazili pisemną zgodę na udział w programie.

Do badania włączano rodziny nuklearne pochodzące z populacji ogólnej, składające się z co najmniej jednego z rodziców i co najmniej dwojga rodzeństwa, w wieku 18–60 lat. Zgromadzono dane epidemiologiczne 326 osób. Z niniejszej analizy wyłączono 15 osób, u których przed badaniem lub w jego trakcie rozpoznano cukrzycę. Ostatecznie analizę statystyczną przeprowadzono w grupie 311 osób.

Pomiary ciśnienia tętniczego sfigmomanometrem ręcznym wykonywano podczas 2 wizyt w domu uczestnika badania, 5-krotnie w ciągu każdej wizyty.

Za wartość ciśnienia tętniczego w pomiarach przygodnych przyjęto średnią z 5 kolejnych pomiarów wykonanych przy drugim spotkaniu z uczestnikiem badania. Nadciśnienie tętnicze rozpoznawano, jeżeli średnia z 5 pomiarów była równa lub przekraczała 140 mm Hg dla ciśnienia skurczowego i/lub 90 mm Hg dla ciśnienia rozkurczowego, lub też gdy uczestnik badania przyjmował leki przeciwnadciśnieniowe.

Wywiady indywidualne, wywiady rodzinne dotyczące nadciśnienia, informacje o stosowaniu używek, aktywności fizycznej oraz długotrwałym przyjmowaniu leków uzyskano, wykorzystując standaryzowany kwestionariusz.

### Pomiary antropometryczne, naczyniowe i parametry biochemiczne

U każdej badanej osoby wykonano pomiary wzrostu, masy ciała, obwodu talii, bioder oraz grubości fałdów skórnych: podłopatkowego oraz nad mięśniami trójgłowym ramienia. Obliczono wskaźnik masy ciała (BMI, *body mass index*), wskaźnik talia:biodra (WHR, *waist:hip ratio*) oraz średnią grubość fałdu skórznego.

Badanie ultrasonograficzne tętnic szyjnych wykonano za pomocą aparatu Hewlett-Packard Sonos 2000 z wykorzystaniem głowicy 7,5 MHz. Wielkość IMT oceniano po obu stronach ciała, na bliższej i dalszej ścianie tętnicy szyjnej wspólnej, w odległości około 20 mm od bifurkacji tętnicy szyjnej wspólnej.

Krew do oznaczeń biochemicznych pobierano rano, po co najmniej 12 godzinach od ostatniego posiłku. Stężenie cholesterolu całkowitego oznaczono metodą enzymatyczną CHOD-PAP przy użyciu zestawu firmy Boehringer Mannheim, cholesterolu frakcji HDL — metodą wytrąceniową frakcji LDL i VLDL przy użyciu mieszaniny heparyny i  $MnCl_2$ , w nadsączu cholesterol HDL oznaczano metodą opisaną powyżej. Stężenie cholesterolu frakcji LDL obliczano na podstawie wzoru Friedewalda. Stężenie triglicerydów oznaczono metodą enzymatyczną GPO-PAP przy użyciu zestawu firmy Boehringer Mannheim.

### Oznaczenia genetyczne

Genomowe DNA izolowano z krwi obwodowej, pobranej na wersenian dwusodowy (EDTA), za pomocą zestawu firmy QIAGEN (QIAamp DNA Blood Mini Kit). Specyficzne startery posłużyły do powielenia w łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR, *polymerase chain reaction*) fragmentów genu LPL zawierających zmutowane miejsce. Detekcja mutacji T→G w intronie 8 genu LPL była możliwa dzięki trawieniu produktów PCR enzymem restrykcyjnym *HindIII*, a następnie elektroforezie mieszaniny in-

kubacyjnej w 1,5-procentowym żelu agarozowym w obecności bromku etydy. Produkty reakcji uwidoczniono w świetle UV. Produkty niestrawione enzymem restrykcyjnym (genotyp -/-) odpowiadają wielkości 1300 bp, całkowite strawienie (genotyp +/+) daje w efekcie produkty o wielkości 700 bp i 600 bp [9].

### Analiza statystyczna

Oprogramowanie SAS, wersja 8.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC) wykorzystano dla zarządzania bazą danych i większości analiz statystycznych. W obrębie badanej grupy wykonano zarówno tradycyjną analizę asocjacji, jak i analizę z uwzględnieniem informacji o strukturze rodzin. W analizie asocjacji wykorzystano metodę GEE (*generalized estimating equations*), która umożliwia uwzględnienie zmiennych powiązanych oraz zależności wewnątrzrodzinnych. Uwzględniano następujące zmienne powiązane: wiek, płeć, BMI, stosowanie leków przeciwnadciśnieniowych, palenie tytoniu, regularne stosowanie alkoholu oraz dodatkowo przygodne ciśnienie skurczowe (dla IMT). W analizie z uwzględnieniem struktury rodzin wykorzystano test nierównowagi transmisji dla zmiennych ilościowych (QTDT, *quantitative transmission disequilibrium test*) przy użyciu modelu ortogonalnego, zaproponowanego przez Abecasis i wsp. w oprogramowaniu QTDT, wersja 2.4 (<http://www.sph.umich.edu/csg/abecasis/QTDT>) [12].

## Wyniki

### Charakterystyka badanej populacji

Badana populacja objęła 129 rodziców oraz 183 ich potomków. Średni wiek rodziców wynosił  $50,4 \pm 5,0$  lat, natomiast potomków  $24,1 \pm 4,7$  roku. Dane dotyczące charakterystyki klinicznej badanej populacji zestawiono w tabeli I, z uwzględnieniem podziału na grupy pokoleniowe i płeć. Rodzice w porównaniu z pokoleniem potomków charakteryzowali się wyższymi wartościami BMI:  $28,7 \pm 4,8$  vs.  $22,9 \pm 3,3$  kg/m<sup>2</sup> ( $p < 0,001$ ) oraz WHR:  $0,90 \pm 0,08$  vs.  $0,80 \pm 0,07$  ( $p < 0,001$ ). Częstość nadciśnienia tętniczego była w pokoleniu starszym istotnie wyższa niż w pokoleniu młodszym (56,3% vs. 14,1%;  $p < 0,001$ ), podobnie odsetek badanych przyjmujących leki przeciwnadciśnieniowe był znacząco wyższy w pokoleniu rodziców (38,0% vs. 4,9%;  $p < 0,001$ ). Pokolenie starsze charakteryzowało się wyższymi wartościami ciśnienia tętniczego w pomiarach tradycyjnych ( $135,8 \pm 18,1/85,7 \pm 10,3$  vs.  $119,7 \pm 13,4/74,0 \pm 9,6$  mm Hg;  $p < 0,001$ ) oraz większym IMT tętnicy szyjnej wspólnej ( $0,080 \pm 0,044$  vs.  $0,057 \pm 0,027$  mm;  $p < 0,001$ ).

**Tabela I.** Charakterystyka badanej populacji (n = 311)  
**Table I.** Characteristics of the study population

	Ojcowie n = 49	Matki n = 79	P <sub>6</sub>	Synowie n = 90	Córki n = 93
<b>Charakterystyka kliniczna</b>					
Wiek (lata)	51,0 ± 4,9	49,8 ± 5,2	0,001	23,2 ± 4,4*	24,9 ± 4,9
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	28,9 ± 3,6	28,6 ± 5,3	0,001	23,2 ± 3,1	22,6 ± 3,4
WHR	0,95 ± 0,06‡	0,85 ± 0,06	0,001	0,84 ± 0,05‡	0,76 ± 0,05
Grubość fałdu skórniego [cm]	1,26 ± 0,64‡	2,41 ± 0,83	0,001	1,03 ± 0,59‡	1,65 ± 0,60
Nadciśnienie tętnicze (%)	26 (53,1)	44 (55,7)	0,001	20 (22,0)‡	6 (6,5)
Nadciśnienie leczone farmakologicznie (%)	11 (22,5)†	34 (43,0)	0,001	7 (7,7)	2 (2,2)
<b>Pomiary przygodne ciśnienia tętniczego*</b>					
Ciśnienie skurczowe [mm Hg]	137,1 ± 17,4	135,1 ± 19,1	0,001	125,7 ± 12,4‡	113,8 ± 11,6
Ciśnienie rozkurczowe [mm Hg]	86,4 ± 11,6	85,2 ± 9,7	0,001	76,5 ± 10,6‡	71,5 ± 7,9
<b>Pomiary biochemiczne — na czczo, osocze</b>					
Glukoza [mmol/l]	4,73 ± 0,85	4,63 ± 0,82	0,001	1,26 ± 0,73	4,30 ± 0,84
Cholesterol całkowity [mmol/l]	1,76 ± 1,14	5,53 ± 1,07	0,001	4,42 ± 0,91	4,62 ± 0,98
Cholesterol frakcji LDL [mmol/l]	3,49 ± 1,09	3,26 ± 1,00	0,001	2,37 ± 0,80	2,51 ± 0,85
Cholesterol frakcji HDL [mmol/l]	1,40 ± 0,34‡	1,62 ± 0,44	0,05	1,52 ± 0,32‡	1,73 ± 0,37
Triglicerydy [mmol/l]	1,98 ± 1,57*	1,49 ± 0,89	0,001	1,21 ± 0,73‡	0,82 ± 0,50
<b>Pomiary naczyniowe</b>					
IMT tętnicy szyjnej wspólnej [mm]	0,77 ± 0,35	0,82 ± 0,51	0,001	0,58 ± 0,32	0,55 ± 0,19
<b>Styl życia</b>					
Osoby palące tytoń (%)	20 (40,8)	22 (27,9)	NS	29 (32,2)*	15 (16,1)
Regularne spożywanie alkoholu (%)	21 (42,9)‡	4 (5,1)	NS	30 (33,3)‡	4 (4,3)

\*Średnia z 10 pomiarów; P<sub>6</sub> p dla różnic pomiędzy pokoleniami

†p < 0,05, ‡p < 0,01, †p < 0,001

Odsetek osób palących tytoń (31,7% vs. 23,9%) i osób regularnie spożywających alkohol (18,3% vs. 18,4%) był podobny w obu pokoleniach.

W pokoleniu rodziców ojcowie w porównaniu z matkami charakteryzowali się wyższymi wartościami WHR, mniejszą grubością fałdu skórniego, niższym stężeniem cholesterolu frakcji HDL oraz wyższym stężeniem triglicerydów w surowicy krwi. Ojcowie częściej niż matki deklarowali regularne spożywanie alkoholu (tab. I). W pokoleniu potomków synowie w porównaniu z córkami charakteryzowali się większą częstością nadciśnienia tętniczego, wyższymi wartościami ciśnienia skurczowego i rozkurczowego w pomiarach przygodnych, jak również niższym stężeniem cholesterolu frakcji HDL oraz wyższym stężeniem triglicerydów w surowicy krwi. Synowie częściej niż córki deklarowali palenie tytoniu i regularne spożywanie alkoholu (tab. I).

Częstość poszczególnych genotypów i alleli badanego polimorfizmu zestawiono w tabeli IV. Obserwowany rozkład genotypów nie różnił się istotnie od rozkładu teoretycznego obliczonego według prawa Hardy'ego-Weinberga (tab. II).

### Polimorfizm LPL a ciśnienie tętnicze i wskaźniki antropometryczne

W badanej populacji nie stwierdzono częstszego występowania określonych genotypów polimorfizmu

*HindIII* genu LPL w podgrupie badanych z nadciśnieniem tętniczym w pomiarach przygodnych ( $n = 96$ ) w porównaniu z badanymi z prawidłowymi wartościami ciśnienia tętniczego (tab. III,  $p = 0,24$  dla genotypów). Obserwowano jednak tendencję do częstszego występowania allelu zmutowanego (-) wśród pacjentów z nadciśnieniem tętniczym (tab. III). Zarówno w pokoleniu rodziców, jak i w pokoleniu potomków nie obserwowano różnic między genotypami w wartościach ciśnienia tętniczego dokonanych w pomiarach przygodnych (tab. IV i V). Nie stwierdzono również istotnych zależności w analizie QTDT (tab. VI).

W pokoleniu rodziców obserwowano wyższe wartości BMI oraz WHR u osobników homozygotycznych -/- w porównaniu z nosicielami allelu (+) polimorfizmu *HindIII* (tab. IV). Podobnych zależności nie obserwowano w pokoleniu potomków ani w analizie asocjacji (tab. V), ani w QTDT (tab. VI).

### Wpływ polimorfizmu *HindIII* genu LPL na wybrane wskaźniki biochemiczne

Analizując parametry biochemiczne krwi, w pokoleniu rodziców stwierdzono tendencję do wyższych wartości cholesterolu całkowitego oraz cholesterolu frakcji LDL u osób homozygotycznych -/-, w porównaniu z nosicielami allelu (+) polimorfizmu *HindIII* (tab. IV). W pokoleniu potomków istotny wpływ na lipidy wywoływała już obecność poje-

**Tabela II.** Częstość genotypów i alleli lipazy lipoproteinowej (LPL) w badanej populacji

**Table II.** The frequency of the lipoprotein lipase (LPL) genotypes and alleles in the study population

Gen	Genotypy			$P_{HW}$	Allele	
	+/+	+/-	-/-		+	-
LPL	171 (55,0%)	114 (36,7%)	26 (8,3%)	0,44	456 (73,3%)	166 (26,7%)

$P_{HW}$ , p dla zgodności rozkładu z prawem Hardy'ego-Weinberga

**Tabela III.** Asocjacja polimorfizmu *HindIII* lipazy lipoproteinowej z występowaniem nadciśnienia tętniczego w badanej populacji

**Table III.** Association of the lipoprotein lipase (LPL) *HindIII* polymorphism with hypertension in the study population

Genotyp		Chorzy z nadciśnieniem tętniczym	Osoby z prawidłowym ciśnieniem tętniczym	p
Genotyp	+/+	47 (49,0%)	124 (57,7%)	0,24
	+/-	38 (39,6%)	76 (35,3%)	
	-/-	11 (11,4%)	15 (7,0%)	
Allel	+	132 (68,8%)	324 (75,3%)	0,09
	-	60 (31,2%)	106 (24,7%)	

**Tabela IV.** Asocjacja fenotypów układu krążenia oraz wskaźników biochemicznych z polimorfizmem *HindIII* genu lipazy lipoproteinowej — pokolenie rodziców  
**Table IV.** Association of cardiovascular phenotypes and biochemical measurements with the lipoprotein lipase *HindIII* polymorphism — parent generation

	Genotypy			P <sub>ANOVA</sub>	p	
	+/+ n = 69	+/- n = 47	-/- n = 12		+ /+ vs. -	+ vs. - /-
<b>Pomiary antropometryczne</b>						
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	28,4 (0,5)	27,1 (0,7)	31,6 (1,3)	<b>0,02</b>	28,5 vs. 28,2	28,0 vs. 31,6 <b>0,01</b>
WHR	0,89 (0,007)	0,89 (0,009)	0,93 (0,018)	<b>0,08</b>	0,89 vs. 0,90	0,89 vs. 0,93 <b>0,03</b>
Grubość fałdu skórniego [cm]	2,05 (0,09)	1,80 (0,11)	2,16 (0,23)	0,14	2,05 vs. 1,87	1,95 vs. 2,17 0,36
<b>Pomiary przygodne ciśnienia tętniczego*</b>						
Ciśnienie skurczowe [mm Hg]	138,1 (2,1)	132,8 (2,5)	135,0 (5,3)	0,27	138,1 vs. 133,2	136,0 vs. 134,8 0,84
Ciśnienie rozkurczowe [mm Hg]	86,1 (1,1)	84,8 (1,4)	86,3 (3,1)	0,77	86,1 vs. 85,1	85,6 vs. 86,2 0,84
<b>Pomiary biochemiczne</b>						
Glukoza [mmol/l]	4,77 (0,10)	4,49 (0,12)	4,80 (0,25)	0,20	4,77 vs. 4,55	4,65 vs. 4,80 0,58
Cholesterol całkowity [mmol/l]	5,61 (0,13)	5,48 (0,16)	6,23 (0,32)	0,12	5,61 vs. 5,62	5,56 vs. 6,23 <b>0,05</b>
Cholesterol frakcji LDL [mmol/l]	3,33 (0,12)	3,22 (0,15)	3,92 (0,32)	0,14	3,34 vs. 3,35	3,29 vs. 3,92 <b>0,06</b>
Cholesterol frakcji HDL [mmol/l]	1,52 (0,05)	1,57 (0,06)	1,50 (0,12)	0,78	1,52 vs. 1,56	1,54 vs. 1,50 0,75
Triglicerydy [mmol/l]	1,70 (0,15)	1,61 (0,18)	1,82 (0,36)	0,84	1,71 vs. 1,65	1,66 vs. 1,82 0,68
<b>Pomiary naczyniowe</b>						
IMT tętnicy szyjnej wspólnej [mm]	0,70 (0,05)	0,71 (0,07)	0,87 (0,15)	0,23	0,70 vs. 0,78	0,71 vs. 0,87 <b>0,09</b>

\* Średnia z 10 pomiarów



**Tabela V.** Asocjacja fenotypów układu krążenia oraz wskaźników biochemicznych z polimorfizmem *HindIII* genu lipazy lipoproteinowej — pokolenie potomków  
**Table V.** Association of cardiovascular phenotypes and biochemical measurements with the lipoprotein lipase *HindIII* polymorphism — offspring generation

	Genotypy			P <sub>ANOVA</sub>	p	
	+/+ n = 102	+/- n = 67	-/- n = 14		+/+ vs. -	+ vs. -/-
<b>Pomiary antropometryczne</b>						
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	22,8 (0,3)	22,8 (0,4)	23,5 (0,8)	0,72	22,8 vs. 22,9	22,8 vs. 23,5 0,42
WHR	0,80 (0,005)	0,80 (0,006)	0,81 (0,013)	0,61	0,80 vs. 0,80	0,80 vs. 0,81 0,45
Grubość fałdu skórniego [cm]	1,36 (0,06)	1,30 (0,07)	1,52 (0,16)	0,43	1,36 vs. 1,34	1,33 vs. 1,52 0,25
<b>Pomiary przygodne ciśnienia tętniczego*</b>						
Ciśnienie skurczowe [mm Hg]	119,3 (1,1)	120,7 (1,4)	117,8 (3,1)	0,60	119,3 vs. 120,2	119,8 vs. 117,7 0,52
Ciśnienie rozkurczowe [mm Hg]	73,9 (0,9)	74,5 (1,1)	72,3 (2,4)	0,70	73,9 vs. 74,1	74,1 vs. 72,3 0,46
<b>Pomiary biochemiczne</b>						
Glukoza [mmol/l]	4,12 (0,08)	4,46 (0,10)	4,60 (0,21)	<b>0,009</b>	4,12 vs. 4,48	4,25 vs. 4,59 0,13
Cholesterol całkowity [mmol/l]	4,37 (0,09)	4,70 (0,11)	4,81 (0,24)	<b>0,04</b>	4,37 vs. 4,71	4,50 vs. 4,80 0,24
Cholesterol frakcji LDL [mmol/l]	2,33 (0,08)	2,56 (0,10)	2,68 (0,21)	0,10	2,33 vs. 2,58	2,42 vs. 2,67 0,26
Cholesterol frakcji HDL [mmol/l]	1,61 (0,04)	1,65 (0,04)	1,67 (0,09)	0,73	1,61 vs. 1,65	1,62 vs. 1,66 0,68
Triglicerydy [mmol/l]	0,95 (0,06)	1,10 (0,08)	1,06 (0,16)	0,31	0,95 vs. 1,09	1,01 vs. 1,05 0,80
<b>Pomiary naczyniowe</b>						
IMT tętnicy szyjnej wspólnej [mm]	0,60 (0,04)	0,53 (0,04)	0,52 (0,11)	0,40	0,60 vs. 0,53	0,57 vs. 0,53 0,73

\* Średnia z 10 pomiarów

**Tabela VI.** Wyniki QTDT — asocjacja fenotypów układu krążenia oraz wskaźników biochemicznych z polimorfizmem *HindIII* genu lipazy lipoproteinowej potomków posiadających heterozygotycznych rodziców**Table VI.** QTDT results — association of cardiovascular phenotypes with the lipoprotein lipase *HindIII* polymorphism — in offspring with heterozygous parents

n	Model ortogonalny Abecasis, 2001	
	X <sup>2</sup>	p
	89	
<b>Pomiary antropometryczne</b>		
BMI	0,63	0,43
WHR	0,52	0,47
Grubość fałdu skórniego	0,39	0,53
<b>Pomiary przygodne ciśnienia tętniczego*</b>		
Ciśnienie skurczowe	0,55	0,46
Ciśnienie rozkurczowe	0,75	0,39
<b>Pomiary biochemiczne</b>		
Glukoza	6,22	<b>0,012</b>
Cholesterol całkowity	5,42	<b>0,019</b>
Cholesterol frakcji LDL	5,11	<b>0,024</b>
Cholesterol frakcji HDL	4,32	<b>0,038</b>
Triglicerydy	0,61	0,43
<b>Pomiary naczyniowe</b>		
IMT tętnicy szyjnej wspólnej	3,41	0,07

\*średnia z 10 pomiarów

dynczego allelu (-): nosiciele tego allelu charakteryzowali się istotnie wyższymi wartościami cholesterolu całkowitego i cholesterolu frakcji LDL w porównaniu z osobnikami homozygotycznymi +/+ (tab. V). Ponadto w analizie QTDT stwierdzono istotny wpływ polimorfizmu *HindIII* genu LPL na stężenie cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji LDL oraz cholesterolu frakcji HDL (tab. VI).

Polimorfizm *HindIII* genu LPL nie wykazywał asocjacji ze stężeniem glukozy na czczo w pokoleniu rodziców (tab. IV). W przeciwieństwie do tego, w pokoleniu młodszym u nosicieli allelu (-) stężenie glukozy na czczo było istotnie wyższe w porównaniu z osobami homozygotycznymi +/+ (tab. V). Zależność tę potwierdzono w analizie QTDT (tab. VI).

### Polimorfizm *HindIII* genu LPL a struktura dużych naczyń tętniczych

W pokoleniu rodziców obserwowano tendencję do większego IMT tętnicy szyjnej wspólnej u osobników homozygotycznych -/- w porównaniu z nosi-

cielami allelu (+) (tab. IV). W pokoleniu potomków nie stwierdzono różnic pomiędzy genotypami w IMT, zarówno w analizie asocjacji, jak i w teście nierównowagi transmisji (tab. V i VI).

## Dyskusja

W badanej populacji polimorfizm *HindIII* genu LPL był związany z zaburzeniami metabolicznymi. Polimorfizm *HindIII* w starszej grupie wiekowej wykazywał asocjację z otyłością, mierzoną za pomocą BMI oraz WHR. W pokoleniu potomków allelu (-) polimorfizmu *HindIII* LPL był związany z wyższymi stężeniami cholesterolu całkowitego i cholesterolu frakcji LDL. W pokoleniu młodszym allelu (-) jest również związany z wyższą wartością glikemii na czczo. Z kolei w pokoleniu rodziców pogorszenie parametrów gospodarki lipidowej wykazywali jedynie nosiciele dwóch kopii allelu (-), homozygotyczność -/- w pokoleniu starszym wiązała się także z nie-



znacznie zwiększonym IMT tętnicy szyjnej. Nie obserwowano wpływu polimorfizmu *HindIII* genu LPL na wartości ciśnienia tętniczego w pomiarach metodą tradycyjną, jednak stwierdzono tendencję do większej częstości nadciśnienia u nosicieli allelu (-).

Stwierdzony w starszej grupie wiekowej związek polimorfizmu *HindIII* ze wskaźnikami antropometrycznymi wydaje się nową obserwacją. Badanie Ukola i wsp. [13] uwzględniało pomiar wskaźników antropometrycznych oraz 100-dniową obserwację ich zmian w odpowiedzi na dodatni bilans kaloryczny w odniesieniu do polimorfizmu *HindIII* genu LPL, przy czym nie stwierdzono różnic w zależności od genotypu. Zarówno badanie w grupie 75 kobiet w okresie pomenopauzalnym [14], jak i obserwacja populacji *Québec Family Study* [15] przyniosły negatywne wyniki.

W badanej grupie w obu pokoleniach polimorfizm *HindIII* genu LPL wykazywał związek ze stężeniem cholesterolu całkowitego oraz cholesterolem frakcji LDL, przy czym wyższe wartości tych lipoprotein stwierdzono u nosicieli allelu (-) w pokoleniu potomków oraz w przypadku występowania genotypu -/- w pokoleniu rodziców. Larson i wsp. [16] stwierdzili wpływ polimorfizmu *HindIII* genu LPL na stężenie cholesterolu całkowitego i cholesterolu frakcji LDL. Wpływ ten był jednak wykrywalny jedynie u płci żeńskiej i wykazywał odmienny kierunek do obserwowanego w niniejszym materiale — najwyższe wartości cholesterolu całkowitego i cholesterolu frakcji LDL wykazywały osoby homozygotyczne +/+. Podobne do wyników uzyskanych przez autorów niniejszej pracy zależności w populacji ogólnej zamieszkującej okolice Augsburga stwierdzono u mężczyzn i kobiet po menopauzie [17]. Przeciwnie do opisywanych obserwacji, w badaniu obejmującym 457 mężczyzn w wieku 40 lat, losowo wybranych z populacji ogólnej, Gerdes i wsp. [18] stwierdzili u osobników homozygotycznych -/- najwyższe wartości cholesterolu frakcji HDL i najniższe stężenie triglicerydów w porównaniu z pozostałymi genotypami polimorfizmu *HindIII* genu LPL. Asocjacje allelu (+) z wyższym stężeniem triglicerydów oraz obniżeniem stężenia cholesterolu frakcji LDL obserwowano u kobiet z otyłością brzuszna [19]. Genotyp +/+ był również częściej obserwowany u mężczyzn z hipercholesterolemią i/lub hipertrigliceridemią, uczestników badania *Atherosclerosis Risk in the Communities* (ARIC) [20]. Z kolei badacze australijscy obserwowali tendencję do wyższego stężenia triglicerydów u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca posiadających genotyp -/- oraz +/- polimorfizmu *HindIII* genu LPL w porównaniu z genotypem +/+ [21]. W tej samej grupie pa-

cjentów nie obserwowano związku polimorfizmu *HindIII* ze stężeniem cholesterolu frakcji HDL, jednak w grupie kontrolnej osób bez istotnych zmian w tętnicach wieńcowych wyższe wartości cholesterolu frakcji HDL stwierdzono u nosicieli allelu (-) [21]. W badaniach w populacji hiszpańskiej osób z chorobą niedokrwienną serca u nosicieli allelu (-) obserwowano podwyższone stężenie triglicerydów [22]. Część badaczy nie obserwowała związku polimorfizmu *HindIII* genu LPL ze stężeniem lipoprotein osocza [14, 15, 23].

Lipaza lipoproteinowa katalizuje lipolizę zarówno chylomikronów, jak i cząsteczek VLDL, zmieniając w ten sposób własności fizyczne tych cząsteczek i odsłaniając epitopy apolipoprotein uczestniczące w przemianach remnantów. Dodatkowo, LPL może również bezpośrednio oddziaływać z receptorem dla cząsteczek LDL, co dodatkowo ułatwia przemiany remnantów chylomikronów [24]. Rozbieżność obserwacji autorów względem związku polimorfizmu *HindIII* genu LPL ze stężeniem lipoprotein z danymi w piśmiennictwie może wynikać z różnego doboru grupy. Populacja poddana niniejszemu badaniu została dobrana w sposób losowy z populacji ogólnej i zawierała osoby w młodym i średnim wieku, natomiast omawiane badania dotyczyły głównie osób z chorobą niedokrwienną serca.

W badanej grupie w pokoleniu potomków obserwowano u nosicieli allelu (-) wyższe wartości glikemii na czczo. Transmisja allelu (-) od heterozygotycznego rodzica wiązała się z podwyższeniem wartości glikemii u potomka. Zgodnie z tą obserwacją, w badaniu *Québec Family Study* [15] nosiciele allelu (-) polimorfizmu *HindIII* genu LPL wykazywali istotnie większą wartość powierzchni pod krzywą w doustnym teście obciążenia glukozą. Wiele grup badawczych nie wykazało jednak związku polimorfizmu *HindIII* genu LPL ze stężeniem glukozy w osoczu na czczo [14, 16].

U osób z pokolenia rodziców wykazujących homozygotyczność pod względem allelu (-) polimorfizmu *HindIII* genu LPL obserwowano tendencję do wyższych wartości IMT tętnic szyjnych. W badaniach obejmujących podgrupę uczestników badania *Atherosclerosis Risk in the Communities* (ARIC) polimorfizm *HindIII* genu LPL wykazywał również asocjacje z IMT tętnic szyjnych, ale jedynie u płci męskiej. Większą grubość IMT stwierdzono u mężczyzn homozygotycznych pod względem allelu (+) [20]. Chociaż IMT tętnic szyjnych nie jest bezpośrednim wykładnikiem zaawansowania procesu miażdżycowego na przykład w tętnicach wieńcowych, to w badaniach epidemiologicznych wykazano jego związek z występowaniem czynników ryzyka chorób układu krążenia [25].

Wielkość IMT tętnicy szyjnej wspólnej jest wskaźnikiem strukturalnych i czynnościowych własności ściany naczyniowej, może odzwierciedlać wczesną fazę rozwoju procesów miażdżycowych, niemiażdżycową reakcję adaptacyjną na bodziec mechaniczny lub też związane z wiekiem zmiany w składowych podścieliska ściany naczyniowej [26]. Związek polimorfizmu *HindIII* genu LPL z występowaniem zawału serca wykazano w badaniu ECTIM prowadzonym we Francji i w Irlandii [27]. Obserwacje dotyczące związku polimorfizmu *HindIII* genu LPL z występowaniem choroby niedokrwiennej serca przyniosły rozbieżne wyniki. Część autorów donosiła o zwiększonym ryzyku dla nosicieli allelu (+) [28], inni o braku takiej zależności [29].

Polimorfizm *HindIII* genu LPL jest zlokalizowany w obrębie intronu genu LPL. Mało prawdopodobny jest więc jego bezpośredni wpływ na strukturę i/lub nasilenie produkcji enzymu LPL. Najpewniej obserwowana asocjacja polimorfizmu *HindIII* genu LPL ze składowymi zespołami metabolicznymi i wielkością IMT tętnic szyjnych odzwierciedla sprzężenie *locus HindIII* z innym funkcjonalnym rejonem polimorficznym w obrębie genu LPL, na przykład S447X [30] lub w rejonie promotora tego genu. Niniejsze obserwacje wymagają dalszych badań, z uwzględnieniem informacji na temat haplotypów w obrębie genu LPL oraz oceny ich wpływu na aktywność LPL.

## Wnioski

Polimorfizm *HindIII* genu LPL wpływa na stężenie lipidów w surowicy krwi w obu grupach wiekowych oraz stężenie glukozy na czczo w pokoleniu potomków. W pokoleniu rodziców jest także związany z otyłością oraz większym IMT tętnic szyjnych.

## Streszczenie

**Wstęp** Częstość zespołu metabolicznego, którego składową jest nadciśnienie tętnicze, wykazuje stały wzrost. Celem pracy była ocena w badaniu rodzin wpływu polimorfizmu *HindIII* genu lipazy lipoproteinowej (LPL, *lipoprotein lipase*) na ciśnienie tętnicze, otyłość, stężenie glukozy na czczo oraz profil lipidowy i grubość kompleksu błona wewnętrzna-błona środkowa (IMT, *intima-media thickness*) tętnic szyjnych.

**Materiał i metody** Oznaczenia genetyczne polimorfizmu *HindIII* genu LPL wykonano u 326 osób, członków 86 rodzin nuklearnych, uczestników badania populacyjnego, prowadzonego w okolicach

Krakowa. Z analizy wykluczono 15 osób chorych na cukrzycę. U pozostałych 311 uczestników wykonano pomiary ciśnienia tętniczego sfigmomanometrem rtęciowym, w domu pacjenta, podczas 2 oddzielnych wizyt, 5-krotnie w czasie każdej wizyty. Pomiary antropometryczne przeprowadzono według standardowego protokołu. Wykonano oznaczenia stężenia glukozy na czczo oraz profilu lipidowego. Za wskaźnik przebudowy naczyń tętniczych przyjęto IMT tętnic szyjnych w badaniu ultrasonograficznym.

**Wyniki** Częstość genotypów wynosiła 55,0% dla +/+, 36,7% dla +/- oraz 8,3% dla -/- i nie wykazywała odchylenia od prawa Hardy'ego-Weinberga ( $p = 0,44$ ). W pokoleniu rodziców (śr. wiek: 50,7 roku) osoby homozygotyczne -/- w porównaniu z nosicielami allelu (+) charakteryzowały się wyższym wskaźnikiem masy ciała (BMI) (31,6 *vs.* 28,0 kg/m<sup>2</sup>;  $p = 0,01$ ) i podwyższonym stężeniem cholesterolu całkowitego (6,23 *vs.* 5,56 mmol/l;  $p = 0,05$ ). Rodziców homozygotycznych wobec allelu (-) charakteryzowała również tendencja do wyższego stężenia cholesterolu frakcji LDL (3,92 *vs.* 3,29 mmol/l;  $p = 0,06$ ) i większego IMT tętnic szyjnych (0,87 *vs.* 0,71 mm;  $p = 0,09$ ). W pokoleniu potomków (śr. wiek: 24,1 roku) nosicielstwo allelu (-) wiązało się z wyższym stężeniem glukozy na czczo (4,48 *vs.* 4,12 mmol/l;  $p = 0,003$ ), cholesterolu całkowitego (4,71 *vs.* 4,37 mmol/l;  $p = 0,01$ ) i cholesterolu frakcji LDL (2,58 *vs.* 2,33 mmol/l;  $p = 0,04$ ). W teście nierównowagi transmisji dla zmiennych ilościowych, polimorfizm *HindIII* genu LPL wpływał głównie na stężenie glukozy na czczo ( $\chi^2 = 6,62$ ,  $p = 0,01$ ).

**Wnioski** Polimorfizm *HindIII* genu lipazy lipoproteinowej wpływa na stężenie lipidów w surowicy krwi w obu grupach wiekowych oraz na stężenie glukozy na czczo w pokoleniu potomków. W pokoleniu rodziców jest także związany z otyłością oraz większą grubością kompleksu *intima-media* tętnic szyjnych.

**słowa kluczowe:** ciśnienie tętnicze, kompleks *intima-media* tętnicy szyjnej, zespół metaboliczny, lipaza lipoproteinowa, polimorfizm

*Naciśnienie Tętnicze 2005, tom 9, nr 1, strony 11–21.*

## Piśmiennictwo

1. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285: 2486–2497.
2. Reaven G.M. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37:1595–1607.
3. Rebbeck T.R., Turner S.T., Sing C.F. Probability of having hypertension: effects of sex, history of hypertension in parents, and other risk factors. *J. Clin. Epidemiol.* 1996; 49: 727–734.

4. Bao W., Srinivasan S.R., Wattigney W.A., Berenson G.S. The relation of parental cardiovascular disease to risk factors in children and young adults. *Circulation* 1995; 91: 365–371.
5. Mulder M., Lombardi P., Jansen H. Low density lipoprotein receptor internalizes LDL and VLDL that are bound to heparan sulphate proteoglycans via lipoprotein lipase. *J. Biol. Chem.* 1993; 268: 9369–9375.
6. Benlian P., De Gennes J.L., Foubert L., Zhang H., Gagné S.E., Hayden M. Premature atherosclerosis in patients with familial chylomicronemia caused by mutations in the lipoprotein lipase gene. *N. Engl. J. Med.* 1996; 335: 848–854.
7. Kastelein J.J.P., Jukema J.W., Zwinderman A.H. i wsp. for the REGRESS Study Group. Lipoprotein lipase activity is associated with severity of angina pectoris. *Circulation* 2000; 102: 1629–1633.
8. Sparkes R.S., Zollman S., Klisak I. i wsp. Human genes involved in lipolysis of plasma lipoproteins: mapping of loci for lipoprotein lipase to 8p22 and hepatic lipase to 15q21. *Genomics* 1987; 1: 138–144.
9. Gotoda T., Yamada N., Murase T. i wsp. Detection of three separate DNA polymorphisms in the human lipoprotein lipase gene by gene amplification and restriction endonuclease digestion. *J. Lipid Res.* 1992; 33: 1067–1072.
10. Kuznetsova T., Staessen J.A., Kawecka-Jaszcz K. i wsp. on behalf of the EPOGH Investigators. Quality control of the blood pressure phenotype in the European Project on Genes in Hypertension. *Blood Press. Monit.* 2002; 7: 215–224.
11. Staessen J.A., Fagard R., Amery A. Life style as a determinant of blood pressure in the general population. *Am. J. Hypertens.* 1994; 7: 685–694.
12. Abecasis G.R., Cookson W.O.C., Cardon L.R. Pedigree tests of transmission disequilibrium. *Eur. J. Hum. Genet.* 2000; 8: 545–551.
13. Ukkola O., Tremblay A., Bouchard C. Lipoprotein lipase polymorphisms and responses to long-term overfeeding. *J. Intern. Med.* 2002; 251: 429–436.
14. Nicklas B.J., Ferrell R.E., Rogus E.M. i wsp. Lipoprotein lipase gene variation is associated with adipose tissue lipoprotein lipase activity, and lipoprotein lipid and glucose concentrations in overweight postmenopausal women. *Hum. Genet.* 2000; 106: 420–424.
15. Ukkola O., Garenc C., Pérusse L. i wsp. Genetic variation at the lipoprotein lipase locus and plasma lipoprotein and insulin levels in the Québec Family Study. *Atherosclerosis* 2001; 158: 199–206.
16. Larson I., Hoffmann M.M., Ordovas J.M., Schaefer E.J., März W., Kreuzer J. The lipoprotein lipase HindIII polymorphism: association with total cholesterol and LDL-cholesterol, but not with HDL and triglycerides in 342 females. *Clin. Chem.* 1999; 45: 963–968.
17. Holmer S.R., Hengstenberg C., Mayer B. i wsp. Lipoprotein lipase gene polymorphism, cholesterol subfractions and myocardial infarction in large samples of the general population. *Cardiovasc. Res.* 2000; 47: 806–812.
18. Gerdes C., Gerdes L.U., Hansen P.S., Faergeman O. Polymorphisms in the lipoprotein lipase gene and their associations with plasma lipid concentrations in 40-year-old Danish men. *Circulation* 1995; 92: 1765–1769.
19. Senti M., Bosch M., Aubó C., Elosua R., Masiá R., Marrugat J. for the REGICOR Investigators. Relationship of abdominal adiposity and dyslipemic status in women with common mutation in the lipoprotein lipase gene. *Atherosclerosis* 2000; 150: 135–141.
20. Chen L., Patsch W., Boerwinkle E. HindIII DNA polymorphism in the lipoprotein lipase gene and plasma lipid phenotypes and carotid artery atherosclerosis. *Hum. Genet.* 1996; 98: 551–556.
21. Wang X.L., McCredie R.M., Wilcken D.E.L. Common DNA polymorphisms at the lipoprotein lipase gene. Association with severity of coronary artery disease and diabetes. *Circulation* 1996; 93: 1339–1345.
22. Masana L., Febrer G., Cavanaugh J. i wsp. Common genetic variants that relate to disorders of lipid transport in Spanish subjects with premature coronary artery disease. *Clin. Sci.* 2001; 100: 183–190.
23. Baroni M.G., Berni A., Romeo S. i wsp. Genetic study of common variants at the Apo E, Apo AI, Apo CIII, Apo B, lipoprotein lipase (LPL) and hepatic lipase (LIPC) genes and coronary artery disease (CAD): variation in LIPC gene associates with clinical outcomes in patients with established CAD. *BMC Med. Genetics* 2003; 4: 1–7.
24. Beisiegel U., Weber W., Bengtsson-Olivecrona G. Lipoprotein lipase enhances the binding of chylomicrons to low density lipoprotein receptor-related protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1991; 88: 8342–8346.
25. Heiss G., Sharett A.R., Barnes R., Chambless L.E., Szklo M., Alzola C. Carotid atherosclerosis measured by B-mode ultrasound in populations: associations with cardiovascular risk factors in the ARIC study. *Am. J. Epidemiol.* 1991; 134: 250–256.
26. Sary H.C., Blankenhorn D.H., Chandler A.B. i wsp. A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis-prone regions. *Arterioscler. Thromb.* 1992; 12: 120–134.
27. Jemaa R., Fumeron F., Poirier O. i wsp. Lipoprotein lipase gene polymorphisms: associations with myocardial infarction and lipoprotein levels, the ECTIM study. *J. Lipid. Res.* 1995; 36: 2141–2146.
28. Anderson J.L., King G.J., Bair T.L. i wsp. Association of lipoprotein lipase gene polymorphisms with coronary artery disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1999; 33: 1013–1020.
29. Abu-Amro K.K., Wyngaard C.A., Al-Boudari O.M., Kambouris M., Dzimir N. Lack of association of lipoprotein lipase gene polymorphisms with coronary artery disease in the Saudi Arab population. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2003; 127: 597–600.
30. Humphries S.E., Nicaud V., Margalef J., Tiret L., Talmud P.J., for the EARS. Lipoprotein lipase gene variation is associated with a paternal history of premature coronary artery disease and fasting and postprandial plasma triglycerides. The European Atherosclerosis Research Study (EARS). *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1998; 18: 526–534.