

Katedra i Klinika Hipertensjologii, Angiologii i Chorób Wewnętrznych

Wydział Lekarski II

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Paweł Uruski

**ZWIĄZEK POLIMORFIZMU POJEDYNCZYCH NUKLEOTYDÓW W GENACH
SZLAKU JAK/STAT ORAZ W GENACH KANDYDUJĄCYCH
Z WYSTĘPOWANIEM PIERWOTNEGO NADCIŚNIENIA TĘTNICZEGO**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotorzy: Dr hab. Joanna Wesoły prof. UAM

Prof. dr hab. med. Andrzej Tykarski

Poznań 2012

*Pani Prof. Joannie Wesoły serdecznie dziękuję za umożliwienie przeprowadzenia badań,
merytoryczne wsparcie i pomoc w przygotowaniu pracy.*

*Panu Prof. Andrzejowi Tykarskiemu dziękuję za inspirację, opiekę oraz
nieustannie wyciągniętą przyjacielską dłoń.*

*Moim najbliższym - Aleksandrze, Karolinie, Adasiowi, Franiowi i Rodzicom
dziękuję za wsparcie i cierpliwość.*

Rozprawa doktorska powstała dzięki wsparciu finansowemu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Praca naukowa finansowana ze środków budżetowych na naukę w latach 2010-2012 jako projekt badawczy (grant promotorski nr: N N402 522439).

SPIS TREŚCI

WYKAZ SKRÓTÓW STOSOWANYCH W TEKŚCIE	5
WSTĘP	11
1. Wprowadzenie	11
2. Wpływ czynników genetycznych na nadciśnienie tętnicze	12
3. Rola układu renina-angiotensyna-aldosteron w nadciśnieniu tętniczym	25
4. Związek nadciśnienia tętniczego z procesem zapalnym i układem odpornościowym ...	30
5. Szlak sygnalizacyjny JaK/STAT oraz jego rola w układzie RAA i procesie zapalnym.....	33
CEL PRACY	37
PACJENCI I METODY	38
6. Projekt badania	38
7. Selekcja polimorfizmów pojedynczych nukleotydów	42
8. Metody oceny materiału biologicznego.....	44
Badania laboratoryjne.....	44
Analiza genotypu.....	45
9. Analiza statystyczna wyników	50
WYNIKI	51
OMÓWIENIE WYNIKÓW.....	72
WNIOSKI.....	81
PIŚMIENNICTWO	82
STRESZCZENIE.....	101
ABSTRACT.....	106
SPIS TABEL I RYCIN	111
PODZIĘKOWANIA	113
ANEKS.....	114

WYKAZ SKRÓTÓW STOSOWANYCH W TEKŚCIE

ACE	enzym konwertujący angiotensynę (ang. angiotensin converting enzyme)
ACTH	hormon adrenokortykotropowy (ang. adrenocorticotrophic hormone)
ADD	adducyna
ADM	adrenomodulina
ADR	receptor adrenergiczny (ang. adrenergic receptor)
AGT	angiotensynogen
ALT	aminotransferaza alaninowa
Arg	arginina
ARO	aktywność reninowa osocza
Asn	asparagina
ASO	oligonukleotydy specyficzne dla allelu (ang. allele-specific oligos)
Asn	kwask asparaginowy
ASPAT	aminotransferaza asparaginianowa
AT	angiotensyna
AT1R	receptor angiotensyny II typu 1
AT2R	receptor angiotensyny II typu 2
ATP2B1	błonowa ATPaza transportująca wapń 1 (ang. ATPase, Ca ²⁺ transporting, plasma membrane 1)
ATXN	ataksyna (ang. ataxin)
AYTL1	białko podobne do acylotransferazy typu 1 (ang. acyltransferase like 1)
BAT2	transkrypt 2 związany z HLA-B (ang. HLA-B associated transcript 2)
BMI	wskaźnik masy ciała (ang. body mass index)
BRAP	białko powiązane z BRCA1 (ang. BRCA1 associated protein)
BRIGHT	British Genetics of Hypertension
C10orf107	otwarta ramka odczytu 107 na chromosomie 10
C12orf51	otwarta ramka odczytu 51 na chromosomie 12
C18orf1	otwarta ramka odczytu 1 na chromosomie 18
CACN	kanał wapniowy zależny od napięcia (ang. calcium channel, voltage-dependent)
CADPS	aktywator sekrecji zależny od jonów Ca ²⁺ (ang. Ca ²⁺ -dependent secretion activator)

CAPNS2	mała podjednostka kalpajny typu 2 (ang. calpain, small subunit 2)
CASZ	czynnik transkrypcyjny palca cynkowego (ang. castor zinc finger)
CEU	populacja północno- i zachodnioeuropejska
CHARGE	Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology
CI	przedział ufności (ang. confidence interval)
CTGF	czynnik wzrostu tkanki łącznej (ang. connective tissue growth factor)
CYP	cytochrom P450 (ang. cytochrome P450)
DBP	rozkurczowe ciśnienie tętnicze (ang. diastolic blood pressure)
DNA	kwask deoksyrybonukleinowy (ang. deoxyribonucleic acid)
DRD1	receptor dopaminy typu D1 (ang. dopamine receptor D1)
EBF1	wczesny czynnik komórek B 1 (ang. early B-cell factor 1)
EDN	endotelina
EDTA	kwask etylenodiaminotetraoctowy
eGFR	szacowany współczynnik przesączania kłębuszkowego (ang. estimated glomerular filtration rate)
ENaC	nabłonkowy kanał sodowy (ang. epithelial sodium channel)
ESR	współczynnik opadania krwinek czerwonych (odczyn Biernackiego) (ang. erythrocyte sedimentation rate)
FES	koci onkogen mięsaka (ang. feline sarcoma oncogene)
FGF	czynnik wzrostu fibroblastów (ang. fibroblast growth factor)
FLJ32810	gen białka typu Rho aktywującego GTPazę (ang. Rho-type GTPase-activating protein)
FURIN	furyna (ang. furin)
GDP	guanozynodifosforan
GFR	współczynnik filtracji kłębuszkowej (ang. glomerular filtration rate)
Gln	glutamina
Global BPGen	Global Blood Pressure Genetics
Glu	kwask glutaminowy
Gly	glicyna
GNAS	podjednostka α białka G (ang. G protein α -subunit)
GNB3	podjednostka β 3 białka G (ang. G protein beta polypeptide 3)
GOSR2	kompleks receptora Golgi SNAP 2 (ang. golgi SNAP receptor complex 21)

gp	glikoproteina
GPR	receptor sprzężony z białkiem G (ang. G protein-coupled receptor 1)
GR	glikokortykosteroidy
GRA	hiperaldosteronizm poddający się leczeniu glukokortykosteroidami (ang. glucocorticoid-remediable aldosteronism)
GTP	guanozynotryfosforan
GUCY	cyklaza guanylowa (ang. guanylate cyclase)
GWAS	badanie asocjacyjne całego genomu (ang. genome-wide association studies)
HCT	hematokryt (ang. hematocrite)
HDL	frakcja cholesterolu wysokiej gęstości (ang. high density cholesterol)
HFE	ludzkie białko hemochromatozy (ang. human hemochromatosis protein)
HGB	hemoglobina
HSD	dehydrogenaza hydroksysteroidów (ang. hydroxysteroid dehydrogenase)
HTR1A	receptor 5-hydroksytryptaminy typu 1A (ang. 5-hydroxytryptamine receptor 1A)
hsCRP	białko C-reaktywne oznaczane metodą wysoce czułą (ang. high sensitivity C-reactive protein)
H-W	równanie Hardy-Weinberga
I/D	insercja/delecja
ICAM	międzykomórkowa molekula adhezyjna (ang. intracellular adhesion molecule)
ICBP	The International Consortium for Blood Pressure Genome-Wide Association Studies
IFN	interferon
IL	interleukina
IRAP	aminopeptydazy zależne od insuliny (ang. insulin-regulated aminopeptidase)
JAG1	białko jagged-1 (ang. jagged 1 protein)
JAK	kinaza Janusa (ang. Janus kinase)
LD	niezrównoważenie sprzężeń (ang. linkage disequilibrium)
LDL	frakcja cholesterolu niskiej gęstości (ang. low density cholesterol)

LSP1	białko swoiste dla limfocytów (ang. lymphocyte-specific protein)
Lys	lizyna
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease Study
MECOM	komplekowane locus MDS1 i EVI1 (ang. MDS1 and EVI1 complex locus)
Met	metionina
MMP2	metalopeptydaza macierzy typu 2 (ang. matrix metalloproteinase 2)
MOV10	homolog wirusa białaczki Moloney 10 (ang. Moloney leukemia virus 10, homolog)
MR	mineralokortykosteroidy
MTHFR	reduktaza metylenotetrahydrofolianowa (ang. methylenetetrahydrofolate reductase)
NCC	kanał $\text{Na}^+\text{-Cl}^-$ wrażliwy na tiazidy (ang. thiazide-sensitive $\text{Na}^+\text{-Cl}^-$ cotransporter)
NF-κB	jądrowy czynnik transkrypcyjny (ang. nuclear factor κ B)
NK	naturalni zabójcy (ang. natural killer)
NO	tlenek azotu (ang. nitric oxide)
NOS3	syntaza śródbłonkowa tlenku azotu 3 (ang. nitric oxide synthase 3)
NPPB	peptyd natriuretyczny B (ang. natriuretic peptide B)
NPR3	receptor peptydu natriuretycznego (ang. natriuretic peptide receptor)
NR3C1	receptor glikokortykosteroidowy (ang. nuclear receptor subfamily 3, group C, member 1)
NR3C2	receptor mineralokortykosteroidowy (ang. nuclear receptor subfamily 3, group C, member 2)
NT	nadciśnienie tętnicze
NT5C2	5'-nukleotydaza cytozolu II (ang. 5'-nucleotidase, cytosolic II)
OD	gęstość optyczna (ang. optical density)
OR	iloraz szans (ang. odds ratio)
PBMCs	komórki jednojądrzaste krwi obwodowej (ang. peripheral blood mononuclear cells)
PCR	reakcja łańcuchowa polimerazy (ang. polymerase chain reaction)
PHKB	podjednostka β kinazy fosforylasy (ang. phosphorylase kinase, beta)
PIAS	białko hamujące aktywne STAT (ang. protein inhibitors of activated STATs)

PIK3R1	regulacyjna podjednostka α 3-kinazy fosfatydyloinozytolu (ang. phosphoinositide-3-kinase, regulatory subunit alpha)
PLCD3	fosfolipaza C, delta 3 (ang. phospholipase C, delta 3)
PLCE1	fosfolipaza C, epsilon 1 (ang. phospholipase C, epsilon 1)
PLEKH	homologiczna domena plekstryny (ang. pleckstrin homology domain)
PLT	płytki krwi (ang. platelets)
PPAR	receptory aktywowane przez proliferatory peroksysomów (ang. peroxisome proliferator-activated receptors)
RAA	układ renina-angiotensyna-aldosteron
RBC	czerwone krwinki (ang. red blood cells)
REN	renina
RGS2	białko regulujące przekazywanie sygnału przez białko G (ang. regulator of G-protein signaling 2)
ROCK	kinaza białka Rho (ang. Rho-associated protein kinase)
ROMK	powierzchniowy kanał potasowy rdzenia nerki (ang. renal outer medullary potassium channel)
SBP	skurczowe ciśnienie tętnicze (ang. systolic blood pressure)
SCNN	podjednostka nabłonkowego kanału sodowego (ang. sodium channel, nonvoltage-gated)
SD	odchylenie standardowe (ang. standard deviation)
Ser	seryna
SH	domena homologiczna do produktu onkogenu SRC (ang. SRC-homology)
SLC	rozpuszczalny nośnik (ang. solute carrier)
SNP	polimorfizm pojedynczego nukleotydu (ang. single nucleotide polymorphism)
SOCS	eliminatory sygnałów cytokin (ang. suppressor of cytokine signaling)
SOX6	czynnik transkrypcyjny SOX6 (ang. transcription factor SOX-6)
STAT	transduktor sygnałów i aktywator transkrypcji (ang. signal transducer and activator of transcription)
TBX	czynnik transkrypcyjny T-box (ang. T-box transcription factor)
TC	całkowity cholesterol (ang. total cholesterol)
TGL	trójglicerydy

Thr	treonina
TMEM133	białko przez błonowe 133 (ang. transmembrane protein 133)
TNF	czynnik martwicy nowotworów (ang. tumor necrosis factor)
TNNT3	troponina T typu 3 (ang. troponin T type 3)
TRAFD	domena typu-TRAF palca cynkowego (ang. TRAF-type zinc finger domain)
Trp	tryptofan
TSH	hormon tyreotropowy (ang. thyroid stimulating hormone)
ULK4	kinaza 4 podobna do unc-51 (ang. unc-51-like kinase 4)
USG	ultrasonografia
VCAM	molekuła adhezyjna komórki naczynia (ang. vascular cell adhesion molecule)
WBC	białe krwinki (ang. white blood cells)
WHR	wskaźnik talia biodra (ang. waist to hip ratio)
WHS	Women's Health Study
WNK	kinaza bez lizyny (ang. with-no-lysine [K])
WTCCC	Wellcome Trust Case Control Consortium
ZNF652	proteina palca cynkowego 652 (ang. zinc finger protein 652)

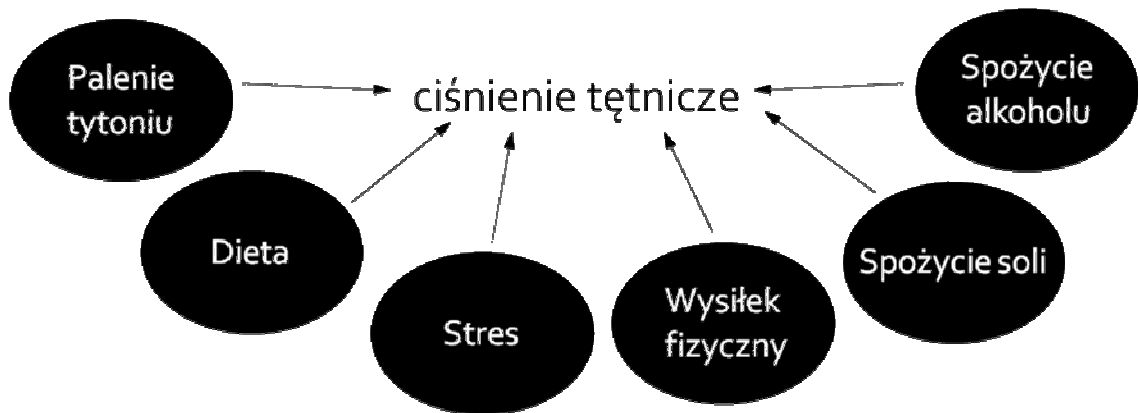
WSTĘP

1. Wprowadzenie

Nadciśnienie tętnicze (NT) jest istotnym problemem epidemiologicznym i społecznym na świecie. Polega na trwałym podwyższeniu ciśnienia tętniczego w wyniku deregulacji mechanizmów homeostatycznych ustroju. W krajach rozwiniętych schorzenie to dotyka od 20 % do 50 % populacji osób dorosłych [1]. Badania epidemiologiczne pokazują, że w populacji polskiej na nadciśnienie tętnicze choruje ok. 30 % społeczeństwa [2]. Szacuje się, że na świecie w najbliższych latach dojdzie do wzrostu zachorowań na to schorzenie, a liczba chorych obejmie 29,2 % ludzkości [3]. W około 90 % NT ma charakter pierwotny, a jego etiopatogeneza nie jest dokładnie poznana, natomiast w pozostałej części przypadków wzrost ciśnienia tętniczego wywołany jest występowaniem innych schorzeń i wtedy NT określamy jako wtórne. Występowanie nadciśnienia tętniczego jest uznanym czynnikiem ryzyka rozwoju chorób sercowo-naczyniowych, takich jak: choroba niedokrwienna serca, niewydolność serca, udar mózgu oraz niewydolność nerek [4-6]. Szacuje się, że powikłania nadciśnienia tętniczego są przyczyną ok. 7 % zgonów światowej populacji osób dorosłych.

Wiele badań poświęconych pierwotnemu nadciśnieniu tętniczemu wykazało, że patomechanizm tej choroby jest niezwykle złożony. Pomimo intensywnych poszukiwań patogeneza nadciśnienia tętniczego nie jest w pełni poznana. Badania rodzin oraz bliźniąt monozygotycznych pokazują, że na ostateczny obraz nadciśnienia tętniczego wpływają zarówno czynniki środowiskowe jak i genetyczne [7]. Wśród czynników środowiskowych wpływających na wzrost ciśnienia tętniczego udowodniony wpływ mają: palenie tytoniu, spożycie soli i alkoholu, nieodpowiednia dieta, ograniczenie wysiłku fizycznego, otyłość oraz stres [8-9] (ryc. 1.). W patomechanizmie schorzenia poza czynnikami środowiskowymi niepodważalny udział ma układ renina-angiotensyna-aldosteron (RAA), układ autonomiczny, czynniki humoralne i endokryne takie jak: endotelina, tlenek azotu, peptydy natriuretyczne, prostaglandyny, wazopresyna oraz układ kalikreina-kininy [10-11]. Wraz z wiekiem coraz większy wpływ na wzrost ciśnienia tętniczego ma podatność tętnic, powiązana z procesem aterosclerozy i stanem zapalnym. Biorąc pod uwagę wpływ czynników środowiskowych, złożony patomechanizm oraz znaczny udział czynników genetycznych w powstawaniu

choroby, nadciśnienie tętnicze zaliczane jest do chorób determinowanych wieloczynnikowo.



Rycina 1. Czynniki środowiskowe wpływające na ciśnienie tętnicze.

2. Wpływ czynników genetycznych na nadciśnienie tętnicze

Nadciśnienie tętnicze już od lat pięćdziesiątych XX wieku jest uznane za chorobę wieloczynnikową, uwarunkowaną wielogenowo [12]. Dotychczasowe badania sugerują, że czynniki genetyczne mogą w 30-60 % odpowiadać za zmienność ciśnienia tętniczego [13]. Dodatkowego potwierdzenia wpływu genów na rozwój nadciśnienia tętniczego dostarczają modele eksperymentalne. Badania dotyczące występowania nadciśnienia tętniczego w rodzinach wykazują znaczny związek zachorowania i pokrewieństwa. Udowodniono, że nadciśnienie tętnicze występuje u 27 % dzieci, których matki biologiczne chorowały na to schorzenie. Ocena współwystępowania nadciśnienia tętniczego u rodzeństwa biologicznego pokazuje, że bracia i siostry osób chorych zapadają na NT w 38 % [14]. Natomiast badania bliźniąt ukazują jeszcze mocniejszy wpływ czynników genetycznych na wzrost ciśnienia tętniczego. Jeśli jedno z bliźniąt dizygotycznych choruje na nadciśnienie tętnicze drugie, ma aż 50 % szans na zachorowanie, z kolei wśród bliźniąt monozygotycznych szanse na zachorowanie rosną aż do 78 % [15-16].

Nieznaczny odsetek przyczyn genetycznych nadciśnienia tętniczego jest uwarunkowany postaciami monogenowymi, dziedziczonymi zgodnie z prawami Mendla. Występowanie postaci jednogenowych nadciśnienia tętniczego jest bardzo rzadkie (<1 %), jednak odkrycie ich występowania dostarczyło znacznej wiedzy na

temat regulacji elektrolitowej i hormonalnej organizmu człowieka. Dotychczas udało się określić geny odpowiedzialne za wystąpienie siedmiu postaci jednogennych nadciśnienia tętniczego. Dotyczą one zaburzeń w układzie RAA, kanałów sodowych i syntezy hormonów [13].

Jako pierwszy został opisany zespół Liddle'a, który związany jest z występowaniem mutacji genów kodujących podjednostki β (*SCNN1B*) i γ (*SCNN1G*) nabłonkowego kanału sodowego (ENaC) [17-20]. Mutacje te powodują zaburzenie regulacji liczby kanałów [21]. W błonie komórkowej dystalnej części nefronu dochodzi do nagromadzenia ENaC, co sprzyja zwiększonej reabsorpcji jonów sodu i wydalaniu jonów potasu. Zespół ten charakteryzuje się ciężkim nadciśnieniem tętniczym, zasadowicą metaboliczną z hipokaliemią, małą aktywnością reninową osocza oraz niskim stężeniem aldosteronu w osoczu. Naturalnym antagonistą kanałów sodowych jest amyloid, diuretyk oszczędzający potas, który działa zmniejszając reabsorpcję sodu przez zmutowane kanały, a tym samym prowadzi do obniżenia ciśnienia tętniczego.

Hiperaldosteronizm poddający się leczeniu glukokortykosteroidami (GRA), inaczej zwany rodzinnym hiperaldosteronizmem typu 1, jest zespołem dziedzicznym autosomalnie dominująco, objawiającym się nadciśnieniem tętniczym o zmiennym nasileniu, umiarkowaną hipokaliemią, oraz zasadowicą metaboliczną. W oznaczeniach laboratoryjnych zaobserwować można obniżoną aktywność reninową osocza i podwyższone stężenie aldosteronu. Przyczyną GRA jest nierówna rekombinacja podczas mejozy między genami: syntazy aldosteronu (*CYP11B2*) a 11- β -hydroksylazy (*CYP11B1*). Efektem rekombinacji jest gen składający się w obszarze kodującym z sekwencji genu *CYP11B2* zaś w obszarze regulującym z promotora genu *CYP11B1* [22]. Efektem powstania chimerycznego genu jest synteza aldosteronu kontrolowana za pomocą hormonu adrenokortykotropowego (ACTH). Leczenie tego zespołu polega na podawaniu glikokortykosteroidów co wpływa hamująco na produkcję ACTH, tym samym hamując produkcję aldosteronu.

Zespół Gordona, pseudohipoaldosteronizm typu 2, to jednostka chorobowa objawiająca się nadciśnieniem tętniczym, kwasicą metaboliczną oraz hiperkaliemią. Objawy te są wtórne do wzrostu absorpcji chlorku sodu przez kanał wrażliwy na tiazdy (NCC) i spadku wydzielania jonów potasu przez kanał potasowy powierzchniowy rdzenia nerki (ROMK) w części dalszej nefronu. W zespole Gordona

dochodzi do mutacji w genach kodujących kinazy serynowo-treoninowe (*WNK1* i *WNK4*) [23]. Fizjologicznie aktywność kanału NCC reguluje kinaza WNK4, która hamuje reabsorpcję jonów chloru i sodu. U osób z zespołem Gordona powyższa regulacyjna rola jest zaburzona, a zmutowana kinaza WNK4 hamuje wydzielanie jonów potasu doprowadzając do wzrostu ich stężenia [24]. Mechanizm zmian związanych z mutacją genu *WNK1* nie jest dokładnie poznany, ale najprawdopodobniej wiąże się z nieprawidłowym działaniem innych kinaz, w tym WNK4 [25]. Zmieniona kinaza WNK1 prawdopodobnie uniemożliwia prawidłowe działanie WNK4, z opisanymi powyżej konsekwencjami. Leczenie zespołu Gordona oparte jest na podawaniu diuretyków tiazydowych, które hamują kotransporter NCC [26].

Zespół pozornego nadmiaru mineralokortykoidów jest chorobą dziedziczną autosomalnie recesywnie, objawiającą się ciężkim nadciśnieniem tętniczym, hipokaliemią, zasadowicą metaboliczną z niską aktywnością reninową osocza i niskim stężeniem aldosteronu. Zespół powyższych objawów wywołany jest mutacją w genie enzymu dehydrogenazy 11 β -hydroksysteroidów typu 2 (*HSD11B2*) powodującą jego inaktywację. Prowadzi to do upośledzenia przekształcania kortyzolu w kortyzon a w konsekwencji do wzrostu stężenia tego pierwszego [27]. Kortyzol występujący w wysokim stężeniu aktywuje receptor mineralokortykosteroidowy wywołując objawy.

Nadciśnienie tętnicze przyspieszone przez ciążę związane jest z mutacją genu receptora mineralokortykosteroidowego (*NR3C2*). Mutacja ta umożliwia aktywację receptora przez aldosteron, kortyzol, kortyzon, progesteron i spironolakton. W związku ze wzrostem stężenia progesteronu podczas ciąży objawy związane ze wzrostem ciśnienia tętniczego nasilają się w tym okresie. Poza nadciśnieniem tętniczym obserwowany jest również spadek aktywności reninowej osocza i niskie stężenie aldosteronu z umiarkowaną hipokaliemią [28].

Nadciśnienie tętnicze z brachydaktylią, związane jest ze zmianami w obrębie obszaru o długości 4 centimorganów na krótkim ramieniu chromosomu 12. Objawami tego zespołu poza nadciśnieniem tętniczym i brachydaktylią są niski wzrost i anomalie naczyniowe w obrębie czaszki [29-30]. Dokładny mechanizm rozwoju nadciśnienia tętniczego w tym przypadku nie jest znany.

Opisano trzy przypadki nadciśnienia tętniczego związanego z mutacją w genie (PPARG) dla receptora γ aktywowanego przez proliferatory peroksydomów (PPAR)

w populacji kaukaskiej. PPARy są jądrowymi receptorami pełniącymi rolę czynników regulujących ekspresję genów odpowiedzialnych za dojrzewanie adipocytów, lipogenezę, wychwyt glukozy, insulinowrażliwość tkanki tłuszczowej, mięśni szkieletowych i wątroby. Mogą wpływać na ekspresję genów odpowiedzialnych za magazynowanie i podaż energii, cykl komórkowy oraz produkcję adipocytokin. Głównie działają w adipocytach tkanki tłuszczowej jednak zidentyfikowano je również w komórkach śródbłonna, mięśni gładkich naczyń, sercu, płucach i nerkach. Innym efektem ich regulacji w warunkach fizjologicznych jest obniżenie ciśnienia tętniczego poprzez blokadę kanałów dla jonów wapnia w komórkach mięśni gładkich, hamowanie uwalniania endoteliny-1 (czynnik naczynioskurczowy) i wzrost sekrecji peptydu natriuretycznego typu C (czynnik naczyniorozkurczowy) w komórkach śródbłonna. Nadciśnieniu tętniczemu w tym zespole towarzyszy cukrzyca typu 2 ze znaczną insulinoopornością [31].

Poza monogenowymi formami nadciśnienia tętniczego wydaje się, że udział poszczególnych loci we wzroście ciśnienia tętniczego jest niewielki. Ta specyfika chorób wielogenowych powoduje znaczne trudności w poszukiwaniu jednoznacznych przyczyn schorzenia. Poza tym na ostateczny obraz schorzenia mogą wpływać zarówno różne loci jak i osobnicza, specyficzna kombinacja alleli odpowiadających za zróżnicowanie wartości ciśnienia tętniczego. Powyższe czynniki powodują, że w literaturze bardzo często można spotkać zarówno badania wykazujące, jak i wykluczające wpływ zmian genetycznych na wzrost ciśnienia tętniczego. W związku z mnogością badań, brakiem jednoznaczności i różnorodnością metod analizy polimorfizmów nie sposób wymienić wszystkich genów ocenianych w nadciśnieniu tętniczym.

Genom ludzki cechuje się nieznaczną zmiennością pomiędzy poszczególnymi osobnikami, dotyczy ona zaledwie 0,1% informacji w nim zawartej. Za zmienność ludzkiego genomu odpowiadają głównie polimorfizmy pojedynczych nukleotydów (SNP), które są najczęstszymi polimorfizmami występującymi w genomie człowieka. SNP występują w sekwencjach kodujących (cSNP, codingSNP), niekodujących (introny) oraz regulatorowych np. w sekwencjach promotorowych lub regulatorowych (rSNP, regulatorySNP). Występowanie SNP w sekwencji kodującej może skutkować zmianą w budowie białek (polimorfizmy niesynonimiczne), a w fragmentach regulatorowych, modyfikacją ekspresji genu. W związku z zdegenerowaniem kodu genetycznego (różne

trójki zasad mogą kodować ten sam aminokwas), nie każdy cSNP powoduje zmianę sekwencji aminokwasowej. Istotną cechą SNP jest zmienność występowania w różnych populacjach.

Jedną z form poszukiwań loci związanych z występowaniem chorób są analizy sprzężeń (LD). Badania oparte o tą metodę w znacznym stopniu przyczyniły się do identyfikacji monogenowych przyczyn nadciśnienia tętniczego oraz wykazały wielogenowy charakter pierwotnego nadciśnienia tętniczego. W ostatnich latach metoda rodzinnej analizy sprzężeń genetycznych w nadciśnieniu tętniczym traci na znaczeniu, między innymi ze względu na jej ograniczoną czułość i możliwości statystyczne związane z identyfikacją "słabych" loci. Analiza sprzężeń jest używana do identyfikacji loci o silnym związku z patogenezą choroby, ale wraz ze wzrostem liczby genów mających indywidualnie niewielki wpływ na występowanie choroby znaczenie tej metody słabnie, tak jak w przypadku ciśnienia tętniczego, które jest determinowane przez wiele loci. Mimo swoich ograniczeń, dzięki analizom sprzężeń, udowodniono, że pojedyncze zmiany genetyczne mają wpływ na zmienność ciśnienia tętniczego. W związku z powyższym wskazały na potrzebę badań na dużych próbach z odpowiednią reprezentacją fenotypową oraz wielostopniową analizą danych (istotność w badaniach porównawczych, metaanalizach i badaniach eksperymentalnych). Na podstawie dostępnych wyników analiz sprzężeń została opisana znaczna grupa genów kandydujących, które podejrzewane są o związek z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym. We wszystkich chromosomach wskazano obszary genomu związane ze wzrostem ciśnienia tętniczego, jednakże najmocniejszy związek nadciśnienia tętniczego wykazano z chromosomami 2, 3, 5 i 16 [32-34]. Za najbardziej istotne regiony uznano te, które wskazano przynajmniej w dwóch badaniach całogenomowych oraz w przynajmniej jednej metaanalizie badań całego genomu (tabela 1).

Nadal jedną z najbardziej istotnych dróg poszukiwań czynników genetycznych zmienności ciśnienia tętniczego jest analiza genów kandydujących powiązanych z patofizjologicznymi przyczynami rozwoju nadciśnienia tętniczego. Badacze analizując przyczyny wzrostu ciśnienia tętniczego wytypowali geny, których zmienna reprezentacja fenotypowa istotnie zaburza równowagę układów fizjologicznych kontrolujących ciśnienie tętnicze (tabela 2).

Gen	chromosom
Adducyny (<i>ADD2</i>)	2
Kotransportera sodu i wodorowęglanów typu 4 (<i>SLC4A5</i>)	2
Receptora α_{2B} –adrenergicznego (<i>ADRA2B</i>)	2
Wymiennika sodowo-wodorowego typu 2 (<i>SLC9A2</i>)	2
Transportera fosforanów zależnego od sodu typu 1 (<i>SLC20A1</i>)	2
Aktywatora sekrecji zależnego od jonów Ca^{2+} (<i>CADPS</i>)	3
Receptora typu 15 sprzężonego z białkiem G (<i>GPR15</i>)	3
Receptora typu 27 sprzężonego z białkiem G (<i>GPR27</i>)	3
Receptora typu 128 sprzężonego z białkiem G (<i>GPR128</i>)	3
Receptora β_2 –adrenergicznego (<i>ADRB2</i>)	5
Czynnika wzrostu fibroblastów typu 1 (<i>FGF1</i>)	5
Receptora glikokortykosteroidów (<i>NR3C1</i>)	5
Receptora α_{1B} –adrenergicznego (<i>ADRA1B</i>)	5
Receptor dopaminy typu D1 (<i>DRD1</i>)	5
Regulacyjnej podjednostki α_3 -kinazy fosfatydyloinozytolu (<i>PIK3R1</i>)	5
Receptora 5-hydroksytryptaminy typu 1A (<i>HTR1A</i>)	5
Podjednostki β kinazy fosforylazy (<i>PHKB</i>)	16
Transportera noradrenaliny zależnego od sodu (<i>SLC6A2</i>)	16
Metalopeptydazy macierzy typu 2 (<i>MMP2</i>)	16
Białka podobnego do acylotransferazy typu 1 (<i>AYTL1</i>)	16
Małej podjednostki kalpajny typu 2 (<i>CAPNS2</i>)	16

Tabela 1. Geny kandydujące w nadciśnieniu tętniczym w badaniach całego genomu. Opracowano na podstawie "Nadciśnienie tętnicze – podręcznik European Society of Hypertension" [35].

W układzie RAA wskazano na dwa polimorfizmy, w genie *AGT* dla angiotensynogenu Thr174Met oraz Met235Thr, mające wpływ na wzrost ciśnienia tętniczego w populacji kaukaskiej [36-37]. Jednak przeprowadzone badania w różnych populacjach dostarczyły dowodów zarówno potwierdzających jak i wykluczających wpływ powyższych zmian na wystąpienie nadciśnienia tętniczego. Wiele badań wykonano analizując zmienność genetyczną (insercja/delecja) w intronie 16 genu *ACE*,

konwertazy angiotensyny i jej wpływu na nadciśnienie tętnicze. Również w tym przypadku wyniki badań nie są jednoznaczne [38]. Kolejne analizy dotyczyły polimorfizmów w genach *AT1R* i *AT2R* dla receptorów angiotensyny II odpowiednio typu 1 i 2. W genie *AT1R* opisano związek polimorfizmu A1166C oraz A535T z nadciśnieniem tętniczym. Polimorfizmy wykazujące powiązanie z występowaniem nadciśnienia tętniczego w genie dla receptora angiotensyny II typu 2 opisano w intronie 1 A1675G oraz w obszarze nieulegającym translacji A3123C [39]. Istotną zależność polimorfizmów w genie *REN* reniny zaobserwowano w intronie 1 T17G oraz w eksonie 9 G1051A [39].

W rozwoju nadciśnienia tętniczego niezaprzeczną rolę odgrywa autonomiczny układ nerwowy. W dotychczas przeprowadzonych badaniach genetycznych poszukiwano zmian w receptorach adrenergicznych. W genie *ADRB1* dla receptora β_1 -adrenergicznego opisano polimorfizmy pojedynczych nukleotydów powodujące niesynonimiczne substytucje aminokwasów Ser49Gly, Gly389Arg. Wpływ powyższych zmian na wzrost ciśnienia tętniczego nie jest jednoznaczny a opublikowane dane są sprzeczne w tym względzie [40-43]. Kolejnym genem, którego zmienność może wpływać na pierwotne nadciśnienie tętnicze jest gen receptora β_2 -adrenergicznego (*ADRB2*). W tym przypadku opisano polimorfizmy typu zmiany sensu Arg16Gly oraz Gln27Glu w obrębie eksonów. Opublikowano znaczną liczbę badań, które dowodzą związku powyższych zmian ze wzrostem ciśnienia tętniczego [44-47], jednak istnieją również prace wykazujące brak ich wpływu na ten parametr [48-50]. Opisano ponadto związek SNP Trp64Arg w genie *ADRB3* receptora β_3 -adrenergicznego z występowaniem nadciśnienia tętniczego, cukrzycy typu 2 i otyłości [51].

Wiele czynników regulujących funkcję mięśniówki naczyń, a tym samym ciśnienie tętnicze działa poprzez szlak białka G. Opisano polimorfizm C825T występujący w genie *GNB3* podjednostki β_3 białka G mający związek z występowaniem nadciśnienia tętniczego [52]. Jednak i w tym przypadku badacze nie są zgodni, a opublikowana w 2007 r. duża metaanaliza nie pozwoliła na jednoznaczną odpowiedź wpływu tej zmiany na patogenezę nadciśnienia tętniczego, co jest najprawdopodobniej związane z różnicami populacyjnymi w badanych grupach [53]. W populacji afrykańskiej wykazano związek polimorfizmów I/D 1891-1892 TC i I/DI 2138-2139 AA genu *RGS2*, białka regulującego przekazywanie sygnału przez białko G, z nadciśnieniem

tętnicznym. Jednym z białek przekazujących sygnał w szlaku białka G może być białko Rho, należące do rodziny białek wiążących i hydrolizujących guanozotrifosforan (GTP) do guanozodifosforanu (GDP). W 2006 r. Seasholtz i wsp. wykazali związek polimorfizmu Thr431Asn w genie *ROCK2*, kinazy białka Rho z nadciśnieniem tętnicznym [54].

Układ	Gen	Polimorfizm
Renina-angiotensyna-aldosteron	Angiotensynogenu (<i>AGT</i>)	Thr174Met; Met235Thr
	konwertazy angiotensyny (<i>ACE</i>)	(I/D) w intronie 16
	receptora angiotensyny II typu 1 (<i>AT1R</i>)	A1166C; A535T
	receptora angiotensyny II typu 2 (<i>AT2R</i>)	A1675G; A3123C
	reniny (<i>REN</i>)	T17G; G1051A
Współczulny układ nerwowy	receptora β_1 -adrenergicznego (<i>ADRB1</i>)	Ser49Gly; Gly389Arg
	receptora β_2 -adrenergicznego (<i>ADRB2</i>)	Arg16Gly; Gln27Glu
	receptora β_3 -adrenergicznego (<i>ADRB3</i>)	Trp64Arg
Szlak białka G	podjednostki β_3 białka G (<i>GNB3</i>)	C825T
	białka regulującego przekazywanie sygnału przez białko G (<i>RGS2</i>)	I/D 1891-1892 TC; I/D 2138-2139 AA
	kinazy białka Rho (<i>ROCK2</i>)	Thr431Asn
Regulacji skurczu i rozkurczu naczyń	endoteliny 1 (<i>EDN1</i>)	Lys198Asn
	śródbłonkowej syntazy tlenu azotu (<i>NOS3</i>)	G894T; T2786C
Regulacja gospodarki sodem	α -adducyny (<i>ADD1</i>)	Gly460Trp
	β -adducyny (<i>ADD2</i>)	C1797T
	podjednostki α nabłonkowego kanału sodowego (<i>SCNN1A</i>)	G2139A; Thr663Ala

Tabela 2. Geny kandydujące w nadciśnieniu tętnicznym najczęściej oceniane w badaniach asocjacji.

Wśród czynników regulujących równowagę między skurczem a rozkurczem naczyń badacze wskazali związki polimorfizmu Lys198Asn w genie *EDN1* endoteliny 1, będącej czynnikiem naczynioskurczowym [55] oraz polimorfizmów G894T w eksonie 7,

4b/a intronie 4 i T2786C regionie promotora genu *NOS3*, śródbłonkowej syntazy tlenu azotu z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym [56]. Nieprawidłowa produkcja tlenu azotu powoduje zaburzenie rozkurczowej funkcji naczyń.

Znaczna liczba badań została poświęcona poszukiwaniom zmienności genetycznej w układzie regulacji gospodarki sodem, którego wpływ na wzrost ciśnienia tętniczego jest powszechnie uznany. Opisano polimorfizm Gly460Trp w genie *ADD1*, α -adducyny oraz niemy polimorfizm C1797T w genie *ADD2*, β -adducyny, które mają związek z chorobą nadciśnieniową [57-58]. Adducyny będące białkami cytoszkieletu regulują transport błonowy jonów oraz transdukcję sygnałów. Dowiedziono również wpływu polimorfizmów genu *SCNN1A*, podjednostki α nabłonkowego kanału sodowego ENaC na występowanie nadciśnienia tętniczego. Udowodnione znaczenie w rozpoznaniu schorzenia mają dwa polimorfizmy G2139A oraz Thr663Ala genu *SCNN1A* [39, 59], które wpływają na regulację transportu sodu w nefronie.

W ostatnich latach dzięki rozwojowi technik badań genetycznych, w znacznym stopniu zmieniły się możliwości oceny polimorfizmów genomu ludzkiego. Pozwoliło to na wprowadzenie nowej metody badania całego genomu (GWAS, genom-wide association studies), polegającej na analizie występowania niesprzężonych zmienności genetycznych w licznych grupach chorych i zdrowych osób. Dzięki zastosowaniu metod statystycznych z bardzo niskim prawdopodobieństwem wystąpienia błędu, technika ta pozwala na wyselekcjonowanie polimorfizmów mających najistotniejszy związek z występowaniem choroby. Do czasu rozwinięcia się GWAS zmiany genetyczne oceniano za pomocą analizy sprzężeń oraz analizy asocjacji. Rozwój tej nowej metody pozwolił na przeprowadzenie badań z dużą liczbą ochotników analizujących cały ludzki genom w poszukiwaniu SNP istotnych w rozpoznaniu różnych schorzeń, między innymi pierwotnego nadciśnienia tętniczego. W 2007 roku opublikowano wyniki dwóch dużych badań dotyczących analizy genomu w kierunku przyczyn wpływających na rozpoznanie nadciśnienia tętniczego. Levy i wsp. dokonali analizy 100.000 SNP badając ponad 1300 ochotników z Framingham Heart Study. Niestety mimo bardzo dużego obszaru analiz nie zidentyfikowano istotnych czynników wpływających na występowanie nadciśnienia tętniczego [60]. Kolejnym badaniem była opublikowana również w 2007 r. przez Wellcome Trust Case Control Consortium (WTCCC) analiza z badania BRIGHT (British Genetics of Hypertension), gdzie analizowano związek

500.000 ewentualnych czynników genetycznych z siedmioma chorobami, w tym z nadciśnieniem tętniczym. W badaniu wzięto udział 14.000 chorych (po 2.000 osób z jedną z badanych chorób) i 3000 zdrowych ochotników. Niestety również i w tym badaniu nie znaleziono czynników genetycznych istotnie wpływających na rozpoznanie nadciśnienia tętniczego [61]. Dopiero kolejne szeroko zakrojone badania przyniosły pierwsze istotne rezultaty. Zespół Global BPGen (Global Blood Pressure Genetics) analizując 2.500.000 SNP w grupie 34.433 Europejczyków (głównie ze Skandynawii i Wielkiej Brytanii) zidentyfikował 8 istotnych miejsc w genomie mających związek z ciśnieniem tętniczym. Wskazane polimorfizmy dotyczą genów cytochromu P450 (*CYP17A1*, *CYP1A2*), czynnika wzrostu fibroblastów (*FGF5*), domeny SH2 (*SH2B3*), reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (*MTHFR*), proteiny palca cynkowego (*ZNF652*), fosfolipazy C (*PLCD3*) i otwartej ramki odczytu 107 na chromosomie 10 (*C10orf107*) [62]. W kolejnym badaniu opublikowanym w tym samym roku przez Levy i współpracowników w ramach konsorcjum CHARGE (Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology), dokonano analizy 2.500.000 polimorfizmów pojedynczych nukleotydów w materiale uzyskanym od 29.136 ochotników pochodzących ze Stanów Zjednoczonych, Holandii i Islandii. Badanie CHARGE pozwoliło na identyfikację 13 polimorfizmów związanych ze skurczowym ciśnieniem tętniczym (SBP, systolic blood pressure), 20 związanych z rozkurczowym ciśnieniem tętniczym (DBP, diastolic blood pressure) i 10 wpływających na rozpoznanie nadciśnienia tętniczego (tabela 3) [63]. SNP rs3184504 genu *SH2B3* w obu powyższych badaniach był związany z DBP.

W 2011 roku ukazały się wyniki badania międzynarodowego konsorcjum ICBP (The International Consortium for Blood Pressure Genome-Wide Association Studies), w którym analizowano związek 2.500.000 SNP z SBP, DBP i NT u ochotników pochodzących z Europy. W tej analizie wskazano 16 nowych loci oraz 29 SNP związanych z ciśnieniem tętniczym lub chorobą nadciśnieniową (tabela 4) [64]. W tym samym roku opublikowano wyniki kolejnej analizy GWAS, Gene-Centric. W ramach tego badania oceniano 49.452 SNP w populacji 25.118 ochotników pochodzących

SNP	Chromosom	Gen	Związek z ciśnieniem tętniczym lub chorobą nadciśnieniową
rs880315	1	CASZ1	SBP
rs11024074	11	PLEKHA7	DBP
rs4842666	12	ATP2B1*	SBP, NT
rs11105328	12	ATP2B1*	SBP
rs2681472	12	ATP2B1	SBP, DBP, NT
rs2681492	12	ATP2B1	SBP, DBP, NT
rs11105354	12	ATP2B1	SBP, DBP, NT
rs12579302	12	ATP2B1	SBP, DBP, NT
rs17249754	12	ATP2B1*	SBP, DBP, NT
rs11105364	12	ATP2B1*	SBP, DBP, NT
rs11105368	12	ATP2B1*	SBP, DBP, NT
rs11105378	12	ATP2B1*	SBP, DBP, NT
rs12230074	12	ATP2B1*	SBP, DBP, NT
rs3184504	12	SH2B3	DBP
rs4766578	12	ATXN2	DBP
rs10774625	12	ATXN2	DBP
rs653178	12	ATXN2	DBP
rs11065987	12	BRAP	DBP
rs17630235	12	TRAFD1	DBP
rs11066188	12	C12orf51	DBP
rs1991391	12	TBX3-TBX5*	DBP
rs2384550	12	TBX3-TBX5	DBP
rs6489992	12	TBX3-TBX5*	DBP
rs8096897	18	C18orf1	SBP

Tabela 3. SNP związane z SBP, DBP lub nadciśnieniem tętniczym z badania CHARGE.

ATP2B1 - błonowa ATPaza transportująca wapń, CASZ - czynnik transkrypcyjny palca cynkowego, PLEKH - homologiczna domena plekstryny, ATXN - ataksyna, BRAP - białko powiązane z BRCA1, TRAFD1 - domena typu-TRAF palca cynkowego, C12orf51 - otwarta ramka odczytu 51 na chromosomie 12, TBX - czynnik transkrypcyjny T-box, C18orf1 - otwarta ramka odczytu 1 na chromosomie 18, SBP – skurczowe ciśnienie tętnicze, DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze, NT – nadciśnienie tętnicze. *SNP w sąsiedztwie genu.

głównie z Irlandii, Wielkiej Brytanii i Skandynawii. Wykazano związek SNP z ciśnieniem tętniczym w ośmiu loci: genie angiotensynogenu (*AGT*), receptora peptydu natriuretycznego (*NPR3*), ludzkiego białka hemochromatozy (*HFE*), syntazy śródbłonkowej tlenu azotu (*NOS3*), czynnika transkrypcyjnego SOX (*SOX6*), błonowej ATPazy transportującej wapń (*ATP2B1*) oraz sąsiedztwie genów reduktazy metylenotetrahydrofolianowej i peptydu natriuretycznego (*MTHFR-NPPB*), kinazy białkowo-tyrozynowej limfocytów i troponiny (*LSP1/TNNT3*) [65]. Salvi i wsp. w 2012 roku opublikowali wyniki projektu Hypergenes, w którym wzięło udział 3.615 osób ze Skandynawii, kontynentalnej części Włoch i Sardynii, a analizowano 14.055

polimorfizmów. W badaniu tym zidentyfikowano SNP rs3918226 podatności nadciśnienia tętniczego w regionie promotora genu syntazy śródbłonkowej tlenu azotu (*NOS3*) [66]. Poza wymienionymi badaniami dotyczącymi głównie populacji europejskiej dokonano również dużych analiz w populacji azjatyckiej [67-68].

SNP	Chromosom	Gen	Związek z ciśnieniem tętniczym lub NT
rs2932538	1	<i>MOV10</i>	SBP, DBP, NT
rs13082711	3	<i>SLC4A7</i>	DBP
rs419076	3	<i>MECOM</i>	SBP, DBP
rs13107325	4	<i>SLC39A8</i>	SBP, DBP
rs13139571	4	<i>GUCY1A3-GUCY1B3</i>	DBP
rs1173771	5	<i>NPR3-C5orf23</i>	SBP, DBP, NT
rs11953630	5	<i>EBF1</i>	SBP, DBP, NT
rs1799945	6	<i>HFE</i>	SBP, DBP, NT
rs805303	6	<i>BAT2-BAT5</i>	SBP, DBP, NT
rs4373814	10	<i>CACNB2(5²)</i>	SBP, DBP, NT
rs932764	10	<i>PLCE1</i>	SBP, NT
rs7129220	11	<i>ADM</i>	SBP, DBP
rs633185	11	<i>FLJ32810-TMEM133</i>	SBP, DBP, NT
rs2521501	15	<i>FURIN-FES</i>	SBP, DBP
rs17608766	17	<i>GOSR2</i>	SBP
rs1327235	20	<i>JAG1</i>	SBP, DBP
rs6015450	20	<i>GNAS-EDN3</i>	SBP, DBP, NT
rs17367504	1	<i>MTHFR-NPPB*</i>	SBP, DBP, NT
rs3774372	3	<i>ULK4*</i>	DBP
rs1458038	4	<i>FGF5*</i>	SBP, DBP, NT
rs1813353	10	<i>CACNB2(3²)*</i>	SBP, DBP, NT
rs4590817	10	<i>C10orf107*</i>	SBP, DBP, NT
rs11191548	10	<i>CYP17A1-NT5C2*</i>	SBP, DBP
rs381815	11	<i>PLEKHA7*</i>	SBP, DBP
rs17249754	12	<i>ATP2B1*</i>	SBP, DBP, NT
rs3184504	12	<i>SH2B3*</i>	SBP, DBP
rs10850411	12	<i>TBX5-TBX3*</i>	SBP, DBP
rs1378942	15	<i>CYP1A1-ULK3*</i>	SBP, DBP, NT
rs12940887	17	<i>ZNF652*</i>	SBP, DBP, NT

Tabela 4. SNP związane z SBP, DBP lub nadciśnieniem tętniczym z badania ICBP.

MOV10 - homolog wirusa białaczki Moloney 10, SLC4A7 - rozpuszczalny nośnik, kotransporter dwuwęglanów sodu, MECOM - komplekowane locus MDS1 i EVI1, SLC39A8 - rozpuszczalny nośnik, transporter jonów metali, GUCY1A3 - cyklaza guanylowa, NPR3 - receptor peptydu natriuretycznego, EBF1 - wczesny czynnik komórek B, BAT2 - traskrypt związany z HLA-B, PLCE1 – fosfolipaza C epsilon 1, ADM - adrenomodulina, FLJ32810 - białko typu Rho aktywujące GTPazę, TMEM133 - białko przebłonowe, FURIN - furyna, FES - onkogen mięsaka, GOSR2 – kompleks receptora Golgi SNAP 2, JAG1 - białko Jagged-1, GNAS - podjednostka α białka G, EDN3 - endotelina, ULK4 - kinaza podobna do unc-51, CACNB2 - kanał wapniowy zależny od napięcia, NT5C2 - nukleotydaza cytozolu, SBP – skurczowe ciśnienie tętnicze, DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze, NT – nadciśnienie tętnicze.

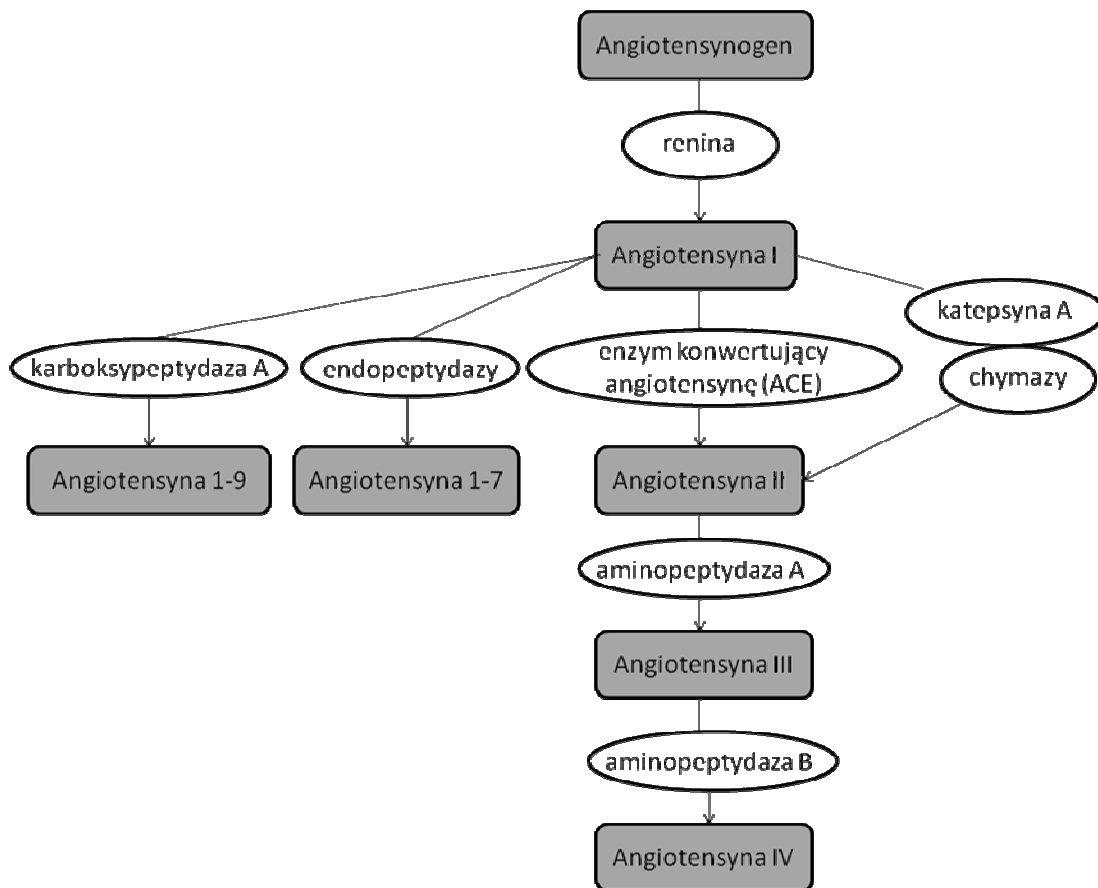
*Loci opisywane we wcześniejszych badaniach.

Badania wykazujące związki polimorfizmów z nadciśnieniem tętniczym w znacznej części nie są jednoznaczne. Wynika to między innymi z faktu małego wpływu pojedynczych loci oraz addytywnego wpływu różnych alleli na wartość ciśnienia tętniczego. Możliwe, że niektóre polimorfizmy (niekoniecznie tylko SNP), występując pojedynczo nie wykazują związku z nadciśnieniem tętniczym, a w zestawieniu z dwu lub kilku szczególnymi loci powodują znaczny wzrost ciśnienia tętniczego [69]. Na występujące polimorfizmy mogą również wpływać czynniki środowiskowe takie jak palenie tytoniu [70] czy spożycie alkoholu [71].

3. Rola układu renina-angiotensyna-aldosteron w nadciśnieniu tętniczym

Układ renina-angiotensyna-aldosteron jest jednym z ważniejszych mechanizmów regulujących ciśnienie tętnicze i gospodarkę wodno-elektrolitową organizmu. W skład układu RAA wchodzi zarówno enzymy jak i hormony, wpływające na funkcję wielu narządów. Aktualnie uznany jest pogląd o współistnieniu dwóch, niezależnych składowych układu RAA – układu nerkowo-osoczkowego i tkankowego. Działalność tkankowej części układu zazwyczaj jest lokalna i dotyczy regulacji ciśnienia tętniczego, procesów apoptozy, proliferacji, podziałów komórkowych i organogenezy. Część nerkowo-osoczkowa swój początek bierze w komórkach aparatu przykłębkowego, znajdujących się w ścianie tętniczki doprowadzającej krew do kłębuszka nerkowego, gdzie z proreniny powstaje renina [72]. Bodźcami wpływającymi na wydzielanie reniny są zmiany ciśnienia w tętniczkach doprowadzających. Silnym bodźcem do jej uwolnienia jest spadek ciśnienia < 90 mm Hg. Kolejnym istotnym regulatorem jej wydzielania jest stężenie sodu w komórkach plamki gęstej, którego spadek powoduje uwalnianie reniny. Poza tym hormon ten pozostaje pod kontrolą układu współczulnego – wzrost stężenia zarówno adrenaliny jak i noradrenaliny działając na receptory β -adrenergiczne przyczynia się do wydzielania reniny. Również wiele czynników hormonalnych i humoralnych wpływa na regulację uwalniania reniny z komórek. Pobudzająco działają prostaglandyna E2 i prostacyklina, zaś hamująco angiotensyna II, wazopresyna oraz endotelina. Poza nerką synteza reniny może zachodzić w sercu, mózgu i nadnerczach [73]. W organach tych bardzo prawdopodobne jest wewnątrzkomórkowe działanie reniny. Ostatnie lata obfitują w badania dowodzące aktywności biologicznej proreniny i reniny szczególnie w zakresie uszkodzenia naczyń (aterogeneza i włóknienie) [74], ale także rozwoju nadciśnienia tętniczego w modelach eksperymentalnych. Wydzielona renina łączy się z produkowanym głównie przez hepatocyty angiotensynogenem powodując odszczepienie od niego angiotensyny I. Istnieją dowody na to, że produkcja angiotensynogenu odbywa się również w sercu, płucach, nerkach i tkance tłuszczowej. Angiotensyna I nie posiada istotnej aktywności biologicznej jednak jest przekształcana przez różne enzymy do aktywnych cząsteczek takich jak angiotensyna II, angiotensyna (1-9) i angiotensyna (1-7). Z angiotensyny II

powstaje angiotensyna III (2-8) i angiotensyna IV (3-8), zaś z angiotensyny (1-7) powstaje angiotensyna (1-5) (ryc. 2).



Rycina 2. Szlak powstawania angiotensyn.

Angiotensyna II powstaje z angiotensyny I pod wpływem enzymu konwertującego angiotensynę (ACE) typu 1. Podobne działanie do ACE w tym względzie wykazują również inne enzymy proteolityczne takie jak chymazy i katepsyna A. Angiotensyna II działa na układ krążenia poprzez receptory AT_1 , które występują w mięśniówce gładkiej naczyń, śródbłonku, sercu, strukturach okołokomorowych mózgu, naczyniach kłębuszków nerkowych, kanalikach nerkowych oraz nadnerczach [75]. Receptory dla angiotensyny II wykryto również w limfocytach T i NK, na komórkach dendrytycznych i prezentujących antygen [76]. Wpływ angiotensyny II na wzrost ciśnienia tętniczego odbywa się wieloma drogami [11]. Podstawowym mechanizmem hipertensyjnym jest skurcz mięśni gładkich naczyń poprzez szlak białka G i wewnątrzkomórkowy wzrost stężenia jonów wapnia. Długotrwała stymulacja komórek naczyń poprzez angiotensynę

II wiąże się ze wzrostem aktywności układu współczulnego, wydzielaniem wazopresyny i endoteliny, a także uruchomieniem innych szlaków wewnątrzkomórkowych powodując nasilenie działania czynników wzrostu, cytokin i reaktywnych form tlenu. Pobudzenie szlaków alternatywnych sprzyja przebudowie naczyń i powstawaniu blaszek miażdżycowych. Długotrwałe zwiększenie stężenia angiotensyny II powoduje wzrost aktywacji układu współczulnego, co wiąże się z odruchową reakcją hipertensyjną. W sercu działanie angiotensyny II wpływa między innymi na zwiększenie stężenia czynnika wzrostu tkanki łącznej (CTGF), czynników adhezji, migracji i apoptozy [77]. Poprzez aktywację tych elementów prowadzi do niekorzystnej przebudowy mięśnia sercowego [78]. Działanie angiotensyny II w mózgu związane jest z regulacją ciśnienia tętniczego poprzez wydzielanie wazopresyny, regulację pragnienia i chęci spożywania sodu [79]. W nerkach angiotensyna II reguluje przepływ poprzez wazokonstrykcyjne działanie na tętniczki doprowadzające i naczynia rdzeniowe. Przyłączając się do komórek kanalikowych wywołuje zwrotne wchłanianie sodu do przestrzeni śródmiąższowej. Angiotensyna II w nadnerczach stymuluje syntezę aldosteronu. Jej działanie w układzie immunologicznym jest wciąż badane, jednak udowodniono wpływ angiotensyny II na proliferację i aktywację limfocytów T oraz zwiększanie stężenia reaktywnych form tlenu [80].

Badania dowodzą, że angiotensyna (1-9) potęguje działanie angiotensyny II poprzez wiązanie z receptorem AT_1 .

Angiotensyna III (2-8) również wzmacnia działanie angiotensyny II szczególnie w mechanizmie wzrostu wydzielania aldosteronu i wazopresyny.

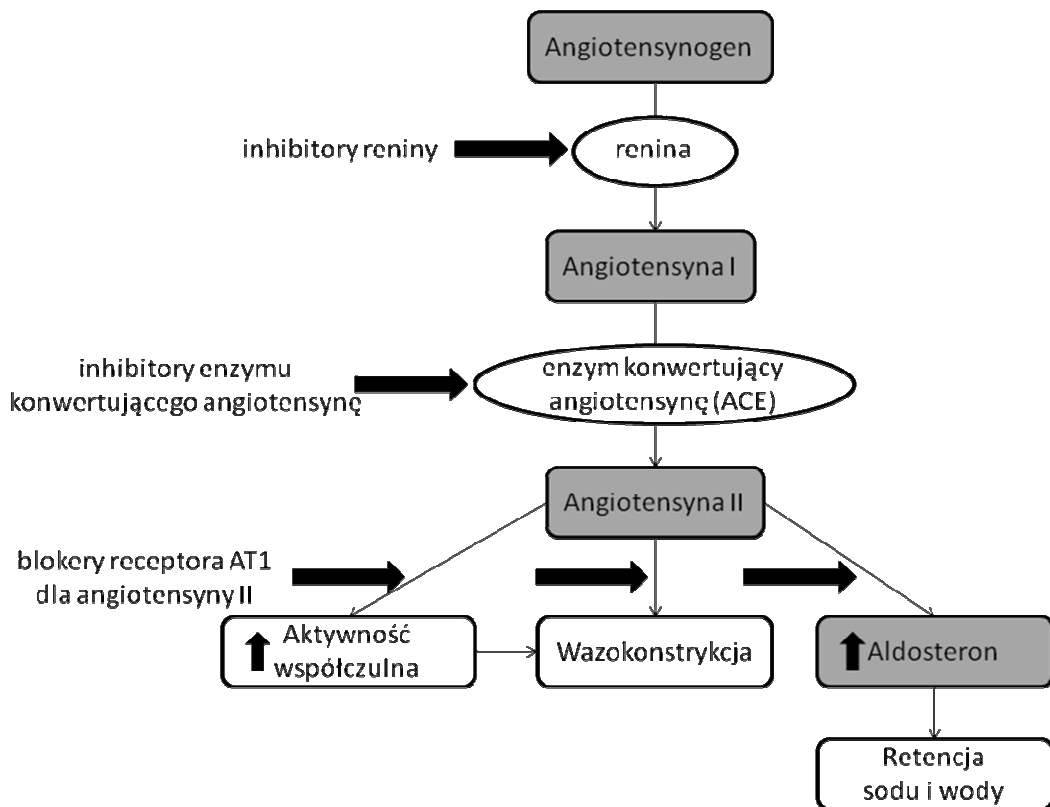
Angiotensyna (1-7) przyłączając się do receptora Mas wywiera przeciwstawny efekt do angiotensyny II. Hamuje aktywność ACE oraz redukuje liczbę receptorów AT_1 zmniejszając tym samym hipertensyjne działanie angiotensyny II [81]. Poza tym angiotensyna (1-7) wywołuje reakcje hipotensyjne poprzez wzrost stężenia tlenku azotu (NO). Wewnątrzkomórkowe szlaki działania angiotensyny (1-7) powodują hamowanie proliferacji i hipertrofii naczyń.

Angiotensyna IV (3-8) wpływa na funkcje komórek poprzez aminopeptydazę regulowaną przez insulinę (IRAP) i receptory AT_4 [82]. Głównym miejscem działania tej angiotensyny jest ośrodkowy układ nerwowy. W mózgu wpływa na procesy poznawcze, zdolność uczenia się i zapamiętywania.

Jednym z najistotniejszych efektów działania angiotensyny II jest wzrost stężenia aldosteronu, hormonu wytwarzanego głównie przez warstwę kłębkowatą kory nadnerczy. Choć istnieją dowody na występowanie innych miejsc jego produkcji, mają one znikome znaczenie dla ogólnoustrojowego stężenia hormonu. Na wydzielanie aldosteronu poza wzrostem stężenia angiotensyny II wpływają takie czynniki jak: wzrost stężenia angiotensyny III i jonów potasu. ACTH, β -endorfina, wazopresyna czy endorfina również mogą stymulować wydzielanie aldosteronu, jednak ich wpływ jest znacznie mniejszy. Hamowanie wydzielania tego hormonu regulowane jest za pomocą dopaminy, somatostatyny i tlenku azotu. Tak jak wszystkie hormony sterydowe, aldosteron przenika do wnętrza komórek przyłączając się głównie do receptorów dla mineralokortykosteroidów (MR). W znacznie mniejszym stopniu przyłącza się również do receptorów dla glikokortykosteroidów (GR). Zgodnie z klasycznym schematem działania hormonów sterydowych zaktywowane receptory stają się czynnikami regulującymi transkrypcję. Aldosteron poprzez swoje działanie zwiększa między innymi stężenie kinazy serynowo-treoninowej, która odpowiada za wzrost ilości kanałów nabłonkowych ENaC na powierzchni komórek jelitowych i kanalików nerkowych [72]. Kanały nabłonkowe odpowiadają za wzrost resorpcji sodu. Działanie aldosteronu w kanaliku dystalnym i cewce zbiorczej wiąże się nie tylko z retencją sodu, ale co za tym idzie również z reabsorbcją wody i wydalaniem jonów potasu oraz wodoru. Receptory dla aldosteronu występują również w naczyniach i sercu. Działając na śródbłonek zmniejsza syntezę NO, przez co prowadzi do obkurczenia naczyń i wzrostu ciśnienia tętniczego [83]. Długotrwałe, podwyższone stężenie aldosteronu prowadzi do przebudowy ścian naczyń poprzez zwiększenie ilości kolagenu i fibronektyny, co w konsekwencji przyczynia się do usztywnienia naczyń [84]. Niekorzystne działanie aldosteronu na serce wiąże się z przerostem i zwłóknieniem mięśniówki. Następstwem tego remodelingu jest spadek elastyczności i wzrost sztywności ścian mięśnia sercowego.

Główną rolą układu RAA w warunkach fizjologicznych jest utrzymanie prawidłowego ciśnienia tętniczego i niewątpliwie istnienie tego mechanizmu pozwala na prawidłowe funkcjonowanie organizmu. Jednak patologiczna stymulacja układu RAA, będąca następstwem zmian w różnych narządach, bądź niepoprawną regulacją samego układu, powoduje nadmierny wzrost ciśnienia tętniczego poprzez między

innymi: retencję sodu i wody, skurcz mięśni gładkich naczyń oraz wzrost sztywności naczyń. W dzisiejszych czasach wpływ układu RAA na nadciśnienie tętnicze jest niekwestionowany, a leki blokujące ten układ, na różnych poziomach, są uznawane za metodę leczenia choroby nadciśnieniowej (ryc. 3).



Rycina 3. Podstawowe mechanizmy działania układu RAA na ciśnienie tętnicze wraz z miejscami blokady za pomocą dostępnych leków.

4. Związek nadciśnienia tętniczego z procesem zapalnym i układem odpornościowym

W opublikowanych badaniach możemy znaleźć potwierdzenie wpływu przewlekłego procesu zapalnego na rozwój nadciśnienia tętniczego jak i zależności pomiędzy wzrostem ciśnienia tętniczego, a stężeniem markerów reakcji zapalnej takich jak CRP, TNF- α , fibrynogen, α 1-antytrypsyna, haptoglobina, ceruloplazmina, orozomukoid czy liczba leukocytów w krwi obwodowej [85-87]. W ostatnim czasie ukazuje się coraz więcej wyników eksperymentów przeprowadzonych głównie na modelach mysich i szczurzych, świadczących o istotnej zależności występowania nadciśnienia tętniczego od aktywacji niektórych elementów układu immunologicznego [76, 88].

Wiele lat temu zaobserwowano, że wysokie ciśnienie tętnicze sprzyja rozwojowi chorób sercowo-naczyniowych. Wraz z rozwojem badań udowodniono, że jedną z przyczyn tej zależności jest nasilenie uszkodzenia śródbłonna poprzez chorobę nadciśnieniową, które prowadzi do rozwoju miażdżycy. Obserwacje analizujące przyczyny rozwoju blaszek miażdżycowych wykazały istotny udział układu immunologicznego i procesu zapalnego w patogenezie tej choroby. Zaburzenie funkcji śródbłonna w dużej mierze zależne jest od wysokiego stężenia reaktywnych form tlenu, które aktywując jądrowy czynnik transkrypcyjny NF- κ B, zwiększają ekspresję molekuł adhezyjnych VCAM-1, ICAM-1, cytokin oraz chemokin. Wzrost stężenia tych czynników nasila przyleganie i migrację komórek układu immunologicznego, takich jak monocyty i komórki wielojądrzaste. Lokalne działanie układu odpornościowego oparte jest na działaniu cytokin prozapalnych, między innymi IFN- γ oraz IL-6 i wywołuje ograniczoną reakcję zapalną. Jak pokazują badania, w reakcji tej aktywowany jest między innymi szlak JaK/STAT poprzez białko STAT1 [89]. Wywołana reakcja zapalna powoduje przerost warstwy mięśniowej i sprzyja powstawaniu blaszki miażdżycowej. Rodniki tlenowe przyłączając się do NO prowadzą do jego dezaktywacji, co wpływa na pogorszenie możliwości relaksacyjnych naczyń prowadząc do wzrostu ciśnienia tętniczego i zwiększonej agregacji płytek. Wzrost stężenia reaktywnych form tlenu, spadek stężenia tlenu azotu i lokalny proces zapalny sprzyjają nasileniu reakcji zapalnej, wywołują aktywację i przyleganie leukocytów oraz wzrost stężenia

wykładników reakcji zapalnej [90]. W wielu badaniach wykazano wzrost stężenia markerów zapalenia takich jak CRP, VCAM, IL-6, ICAM-1 u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym [85]. Badania doświadczalne pokazują, że za upośledzenie produkcji tlenu azotu, zwiększenie stężenia wolnych rodników tlenowych i cytokin prozapalnych oraz aktywację molekuł adhezyjnych odpowiada wzrost stężenia angiotensyny II [91-93].

W ostatnich latach proces zapalny został uznany jak czynnik wpływający na rozwój nadciśnienia tętniczego. W dużej mierze do tego przyczyniły się wyniki kilku dużych badań, w których wykazano wpływ przewlekłego procesu zapalnego na rozwój choroby nadciśnieniowej. Jednym z największych badań w tym aspekcie jest analiza WHS (Women's Health Study), w której wykazano związek podwyższonego stężenia CRP (>3,5 mg/l) z 2,5 krotnym wzrostem ryzyka zachorowania na nadciśnienie tętnicze w stosunku do osób mających CRP <0,43 mg/l [94]. Istotność tego wniosku podkreśla fakt przeprowadzenia obserwacji w grupie ponad 20 tysięcy kobiet, na przestrzeni 8 lat. Podobne badanie przeprowadzono w grupie mężczyzn wykazując wzrost ryzyka wystąpienia nadciśnienia tętniczego u osób z CRP >3 mg/l w stosunku do grupy z CRP <1 mg/l. Ocena markerów zapalenia (IL-6, ICAM-1) u osób bez nadciśnienia tętniczego wykazała korelację z wartością ciśnienia tętniczego [95].

Istnieją również doniesienia sugerujące bezpośredni wpływ komórek układu odpornościowego na wzrost ciśnienia tętniczego i wywołanie choroby nadciśnieniowej. Jedną z hipotez sugeruje wpływ komórek dendrytycznych zlokalizowanych w ścianie naczyń i w nerkach na wzrost ciśnienia tętniczego. W innych badaniach wykazano, że monocyty pobrane od hipertoniców wykazują nadmierną aktywność, objawiającą się zwiększoną produkcją czynników prozapalnych takich jak interleukina 1 β (IL-1 β) i czynnik martwicy nowotworów α (TNF) [96]. W kolejnych eksperymentach na modelach mysich, wykazano redukcyjny wpływ eliminacji makrofagów na liczbę wolnych rodników tlenowych, co przekładało się na poprawę funkcji naczyń i obniżenie ciśnienia tętniczego [97]. Istnieją również dowody na udział limfocytów w rozwoju choroby nadciśnieniowej. Badacze wykazali, że u pacjentów z chorobą nadciśnieniową występuje wzrost aktywności limfocytów, prezentujący się między innymi zwiększeniem produkcji interleukiny 17 (IL-17) [98], która zwiększa stres oksydacyjny i pogarsza reaktywność naczyń [99]. W badaniach eksperymentalnych wykazano również zahamowanie rozwoju nadciśnienia tętniczego u zwierząt pozbawionych

limfocytów T [76, 100]. Wzrost stężenia immunoglobulin u pacjentów z niekontrolowanym nadciśnieniem tętniczym sugeruje udział limfocytów B w rozwoju choroby. W kilku badaniach eksperymentalnych zaobserwowano związek wzrostu i redukcji ciśnienia tętniczego zależny od aktywności limfocytów.

Jednym z czynników aktywujących działanie komórek układu odpornościowego jest angiotensyna II, której receptory AT_1 i AT_2 znajdują się na powierzchni limfocytów T i NK oraz komórek prezentujących antygen [101]. Jednocześnie wykazano, że komórki dendrytyczne i makrofagi mają zdolność do produkcji angiotensyny II. Jednak badania pokazują, że aktywacja limfocytów poprzez angiotensynę II wymaga jednoczesnego pobudzenia czynnikami prozapalnymi. Sugeruje się, iż za aktywację prozapalną odpowiadają bakterie jamy ustnej lub przewodu pokarmowego. Zaobserwowano, że pobudzone limfocyty gromadzą się w przydancie naczyń i okołonaczyniowej tkance tłuszczowej. Sposób działania tych komórek na naczynia nie jest udowodniony, ale podejrzewa się, że jest związany z wydzielaniem cytokin takich jak $TNF\ \alpha$, interferon γ (IFN) czy IL-17. Wykazano również gromadzenie się aktywowanych limfocytów w nerkach i nadnerczach. Mechanizm działania limfocytów T na komórki nerek nie jest znany, ale udowodniono, że brak limfocytów lub ich zahamowanie powoduje wzrost diurezy. Guzik i wsp. wykazali, że u myszy pozbawionych limfocytów B i T nie rozwija się nadciśnienie tętnicze zależne od angiotensyny II. Jednocześnie przeszczepienie limfocytów T zwierzętom tej grupy od myszy z grupy kontrolnej, powodowało rozwój nadciśnienia tętniczego [76].

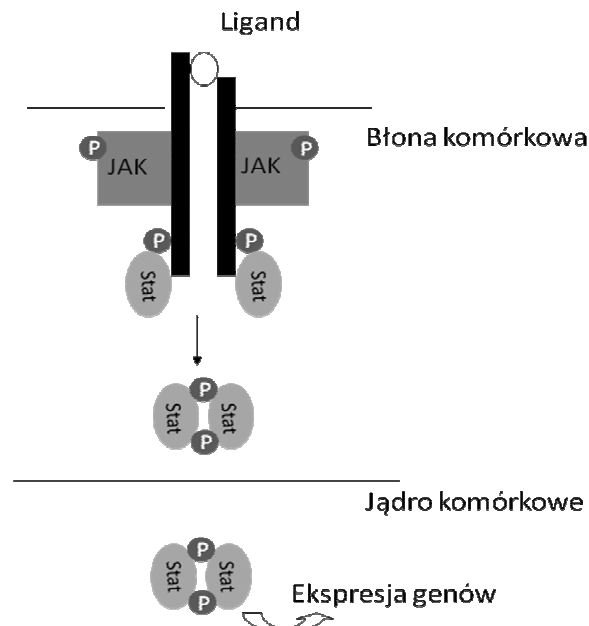
W świetle badań ostatnich lat analiza wzajemnych zależności pomiędzy nadciśnieniem tętniczym a stanem zapalnym musi uwzględniać nie tylko uznawaną przez wiele lat hipotezę o nasileniu procesu zapalnego w skutek uszkodzeń wywołanych nadciśnieniem tętniczym, ale również istotny wpływ układu odpornościowego na wzrost ciśnienia tętniczego. Jednak dokładne poznanie patomechanizmu tych zależności wymaga jeszcze wielu badań.

5. Szlak sygnalizacyjny JaK/STAT oraz jego rola w układzie RAA i procesie zapalnym

Sekwencja sygnałowa JaK/STAT (Janus kinase/signal transducer and activator of transcription) została opisana na początku lat 90 XX w. Poprzez szlak JaK/STAT działa wiele czynników między innymi interleukiny, hormon wzrostu, prolaktyna, erytropoetyna, leptyna, trombopoetyna, interferony i hemokiny. Ścieżka sygnałowa JaK/STAT jest również jednym ze szlaków, który bierze udział w przekazywaniu informacji pomiędzy błonowym receptorem angiotensyny II i jądrem komórkowym [102]. Aktualnie opisanych jest prawie 40 czynników działających poprzez tę kaskadę sygnałową. Szlak ten składa się z rodziny kinaz JAK: JAK1, JAK2, JAK3, TYK2; oraz rodziny białek STAT: STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5A, STAT5B, STAT6 [103]. Rolę sprzężenia zwrotnego dla aktywacji szlaku JaK/STAT spełniają białka rodziny SOCS (Suppressor Of Cytokine Signaling): CISH, SOCS1, SOCS2, SOCS3, SOCS4, SOCS5, SOCS6, SOCS7 [104]. Ich synteza wzbudzana jest poprzez aktywację szlaku JaK/STAT, a zasadniczą rolą jest blokowanie dalszego pobudzenia szlaku. Zahamowanie działania kaskady JaK/STAT może nastąpić również przy udziale białek rodziny PIAS (protein inhibitors of activated STATs): PIAS1, PIAS2, PIAS3, PIAS4. Z dotychczas przeprowadzonych badań wynika, iż w przekazywaniu informacji związanej z pobudzeniem receptora dla angiotensyny II biorą udział wybrane białka szlaku JaK/STAT między innymi: JAK1, JAK2, TYK2, STAT1, STAT3 [105-106], zaś w hamowaniu pobudzonego szlaku białka SOCS1 i SOCS3. Aktywacja szlaku JaK/STAT w komórkach mięśni gładkich naczyń powoduje ich wzrost i proliferację, co w konsekwencji prowadzi do wzrostu ciśnienia tętniczego [107].

Model opisujący aktywację, działanie i regulację kaskady JaK/STAT jest skomplikowany i wciąż uzupełniany, jednak dotychczasowe badania pozwalają założyć pewną ustaloną sekwencję procesów. Przyłączenie ligandu do przezbłonowego receptora pozwala na zmianę jego konformacji, a to umożliwia aktywację powiązanych z receptorem kinaz JAK, które fosforyzują się wzajemnie i powiązane receptory. Ufosofylowanie receptorów pozwala na przyłączenie białek STAT, które ulegają fosforylacji poprzez kinazy JAK. Następnie białka STAT łączą się w homo- lub heterodimer i penetrują do jądra komórki, gdzie wiążą się z palindromowymi

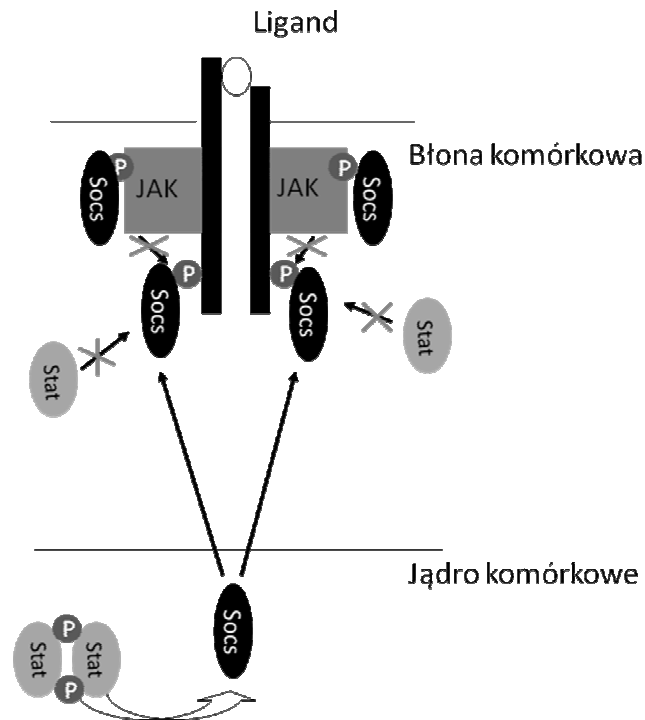
sekwencjami DNA genów docelowych. Dimery białek STAT przyłączają się do sekwencji promotorowych wpływając na aktywację transkrypcji (ryc. 4).



Rycina 4. Model działania sekwencji sygnałowej JaK/STAT.

Jako jeden z genów docelowych szlaku są geny SOCS, których produkty - białka SOCS przyłączają się do kinazy JAK lub bezpośrednio do miejsc aktywowanych receptorów kierując je na szlak degradacji poprzez ubikwitynizację (ryc. 5). Inną drogą hamowania działanie szlaku JaK/STAT jest wiązanie białek PIAS do czynników STAT, co przyczynia się do zmiany ich lokalizacji lub zaburzenia interakcji pomiędzy nimi. Produkcja białek PIAS nie jest zależna od pobudzenia szlaku JaK/STAT.

Dotychczas opublikowane dane na temat roli sekwencji sygnałowej JaK/STAT w patogenezie nadciśnienia tętniczego są bardzo ograniczone. Jednak w kilku pracach udowodniono związek kaskady sygnałowej JaK/STAT z układem RAA. Venema i wsp. wykazali, że angiotensyna II działając poprzez receptor AT_1 powiązany z kinazą JAK2 aktywuje szlak JaK/STAT w komórkach mięśni gładkich naczyń. Fosforylacja receptora pozwala na aktywację, a następnie dimeryzację białek STAT1 [105]. W innych badaniach uzyskano potwierdzenie zależności przyłączenia angiotensyny II do receptora AT_1 i wzbudzenia kinazy JAK2 oraz białek STAT1 [106].



Rycina 5. Model hamowania szlaku Jak/STAT poprzez białka SOCS.

Znacznie więcej badań opublikowano wykazując rolę szlaku JaK/STAT w działaniu układu odpornościowego. Znaczna część cytokin i chemokin biorących udział w regulacji procesu zapalnego i reakcji układu odpornościowego działa aktywując różne subpopulacje kaskady JaK/STAT (tabela 5).

Wiele prac poświęcono analizie działania IL-6, która ma znaczny udział w procesie zapalnym i działaniu układu odpornościowego. Jest istotna między innymi, w produkcji przeciwciał przez limfocyty B, przy aktywacji limfocytów T rozpoznających antygen oraz w reakcji ostrej fazy. Wykazano, że u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym stężenie IL-6 jest istotnie podwyższone. IL-6 wiąże się z podjednostką β receptora glikoproteiny 130 (gp130) powodując aktywację kinaz JAK1, JAK2, TYK2. Ufosforylowane kinazy umożliwiają aktywację receptorów i przyłączenie białek STAT3, które następnie łączą się w dimery (lub heterodimery z STAT1) i przenikają od jądra [108]. Wykazano również, że w drodze hamowania wzbudzonej kaskady JaK/STAT przez IL-6 udział biorą białka SOCS3, które hamują fosforylację receptora i kinaz oraz umożliwiają degradację powstałych kompleksów receptorowych IL-6 [109-110]. Z kolei działanie dimerów STAT3 na DNA jest blokowane przez białka PIAS3 [111].

Ligand aktywujący	Rodzina JAK	Białka STAT
IFN- α , IFN- β	JAK1, TYK2	STAT1, STAT2, STAT3
IFN- γ	JAK1, JAK2	STAT1, STAT3
IL-10	JAK1, TYK2	STAT1, STAT3
IL-6	JAK1, JAK2, TYK2	STAT1, STAT3
IL-2	JAK1, JAK3	STAT5
IL-4	JAK1, JAK3	STAT6
IL-7	JAK1, JAK3	STAT5
IL-9	JAK1, JAK3, TYK2	STAT1
IL-3	JAK2	STAT5
IL-5	JAK2	STAT5
IL-12	JAK2	STAT4

Tabela 5. Aktywacja kinaz rodziny JAK i białek STAT w zależności od ligandów (Briscoe i wsp. [112]). IFN - interferon, IL - interleukina.

Innym czynnikiem stanu zapalnego, którego udział postuluje się w rozwoju nadciśnienia tętniczego jest IFN- γ . Białka te przyłączają się do receptora aktywując kinazę JAK1, JAK2, która na szlaku fosforylacji aktywuje białka STAT1 i STAT3. Dimery białek STAT przyłączają się do DNA, wpływając w ten sposób na aktywację transkrypcji.

Wszystkie mechanizmy działania szlaku JaK/STAT nie są dokładnie poznane, a opublikowane badania sugerują odstępstwa od przyjętego modelu, w funkcjonowaniu niektórych jego elementów. Niemniej jednak niepodważalny jest fakt udziału tej kaskady w procesie zapalnym. Bardzo prawdopodobny jest związek szlaku JaK/STAT z działaniem angiotensyny II, jednak ocena skutków tej reakcji wymaga jeszcze wielu badań. Biorąc pod uwagę istotny wpływ układu RAA i coraz bardziej prawdopodobny udział procesu zapalnego na rozwój nadciśnienia tętniczego zasadną wydaje się analiza struktury składowych kaskady JaK/STAT u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym.

CEL PRACY

1. Ocena częstości występowania wybranych polimorfizmów pojedynczych nukleotydów w sekwencjach kodujących genów: kinazy *JAK3*, *TYK2* czynników *STAT1*, *STAT3* oraz białek *SOCS1*, *SOCS3*, *CISH* w populacji polskiej.
2. Ocena częstości występowania wybranych polimorfizmów pojedynczych nukleotydów w sekwencjach kodujących genów: kinazy *JAK3*, *TYK2* czynników *STAT1*, *STAT3* oraz białek *SOCS1*, *SOCS3*, *CISH* u osób z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym na tle populacji osób zdrowych.
3. Próba wyselekcjonowania polimorfizmów pojedynczych nukleotydów o działaniu ochronnym i wpływającym na rozwój nadciśnienia tętniczego.

PACJENCI I METODY

6. Projekt badania

Do badania włączono 455 osób populacji polskiej, w tym 297 pacjentów leczonych w oddziale oraz poradni przyklinicznej Kliniki Hipertensjologii, Angiologii i Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu z rozpoznaniem pierwotnym nadciśnieniem tętniczym oraz 158 ochotników niechorujących na nadciśnienie tętnicze, którzy zgłosili się w czasie naborów na Uniwersytecie Adama Mickiewicza, Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu i współpracujących poradniach podstawowej opieki zdrowotnej w Poznaniu i Gnieźnie. Ochotnicy włączani byli do badania z Rekrutacją pacjentów i ochotników przeprowadzono w latach 2008-2012.

Kryteria włączenia do badania stanowiły:

1. Rasa kaukaska.
2. Wiek od 18 do 50 roku życia
3. Zgoda pacjenta na udział w badaniu.
4. Rozpoznane pierwotne nadciśnienie tętnicze (dla grupy badanej). Rozpoznanie nadciśnienia tętniczego oparte zostało na kryteriach zawartych w wytycznych Europejskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego z 2007 r. SBP \geq 140 mm Hg i/lub DBP \geq 90 mm Hg [113].

Kryteria wykluczenia dla obu grup zawierały:

1. rozpoznanie cukrzycy
2. dodatni wywiad lub rozpoznanie chorób sercowo-naczyniowych
3. ostry stan zapalny (hsCRP > 10 mg/l)
4. dodatni wywiad lub rozpoznanie choroby nowotworowej
5. wtórne nadciśnienie tętnicze (dla grupy badanej)
6. dodatni wywiad w kierunku przewlekłych chorób zapalnych (m.in.: reumatoidalne zapalenie stawów, toczeń, twardzina układowa, łuszczyca, nieswoiste zapalenia jelit).

Z grupy badanej, na podstawie uzyskanych wyników badań dodatkowych wykluczono 73 ochotników w tym, 11 osób ze względu na rozpoznanie cukrzycy, 11 pacjentów z powodu rozpoznania chorób układu sercowo-naczyniowego, 14 ochotników w związku z ostrym stanem zapalnym, 7 osób z powodu choroby

nowotworowej i 30 pacjentów z powodu wtórnych przyczyn nadciśnienia tętniczego. W 56 przypadkach uzyskane DNA nie było analizowane, ze względu na złą jakość lub niewielką ilość pozyskanego materiału.

Z grupy kontrolnej po wykonaniu badań dodatkowych wykluczono 2 osoby. W jednym przypadku rozpoznano cukrzycę, a w drugim ostry stan zapalny.

Do ostatecznej analizy włączono 168 pacjentów z grupy badanej i 156 ochotników grupy kontrolnej. Schemat badania przedstawiono na rycinie 6.

Wszyscy uczestnicy badania zostali poinformowani o jego celu i przebiegu, a następnie wyrazili pisemną zgodę na udział w projekcie. Program badania uzyskał aprobatę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (Uchwała nr 499/08 z dnia 15 maja 2008 r. - kopia została dołączona do aneksu). Projekt uzyskał finansowanie w ramach grantu promotorskiego Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (aktualnie Narodowego Centrum Nauki), grant numer N N402 522439.

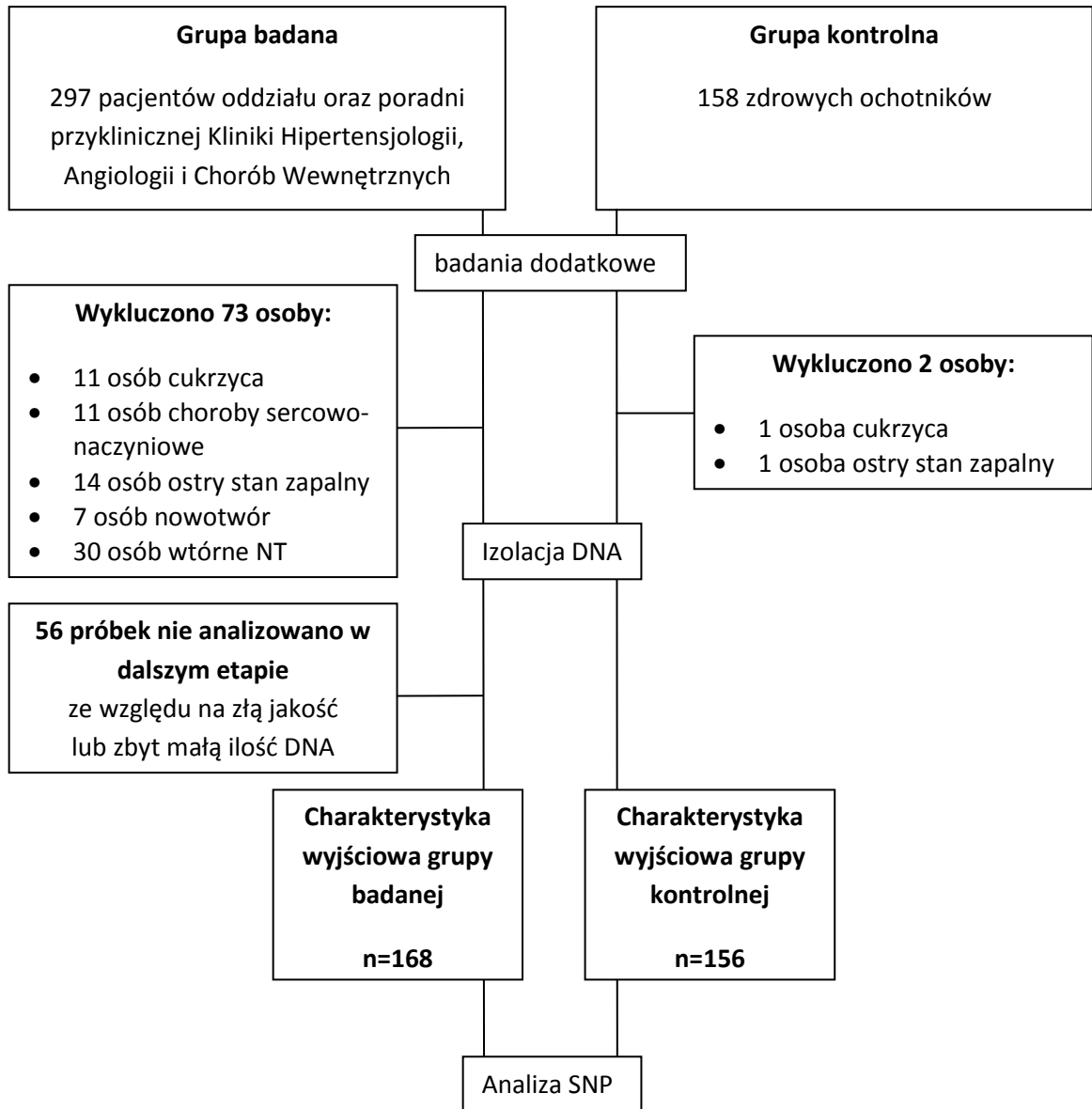
W ramach projektu przeprowadzono badanie podmiotowe obejmujące wykształcenie, dotychczasowy przebieg choroby, stosowane leczenie, występowanie chorób współistniejących, wywiad rodzinny, palenie papierosów, spożycie alkoholu, nawyki żywieniowe, aktywność fizyczną oraz samoocenę poziom stresu przez ochotnika (pełny kwestionariusz został dołączony do aneksu).

Pacjenci byli oceniani w pełnym badaniu przedmiotowym poszerzonym o pomiary antropometryczne takie jak wzrost, masa ciała, obwód tali i bioder z oceną wskaźnika masy ciała (BMI), wg wzoru $BMI = \text{masa ciała [kg]} / (\text{wzrost [m]})^2$ oraz wskaźnik talia/biodra (WHR). Wszystkim uczestnikom badania, wykonano pomiary wartości ciśnienia tętniczego w warunkach standardowych zgodnie z aktualnymi zaleceniami Europejskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego (wykonywano co najmniej dwa pomiary w odstępie 1–2-minutowym).

Ochotnikom pobierano krew na badania laboratoryjne i genetyczne. Krew pobierano z żyły w zgięciu łokciowym na czczo w ilości 20 ml. Materiał biologiczny w badaniach laboratoryjnych stanowiła krew pełna i surowica. Do izolacji DNA używano komórek jednojądrzastych krwi obwodowej (PBMCs), uzyskanych z pełnej krwi żyłnej.

Pacjentom z objawami choroby niedokrwiennej serca w celu wykluczenia, bądź potwierdzenia rozpoznania wykonywano badanie elektrokardiograficzne, próbę wysiłkową, a w niektórych przypadkach koronarografię.

U części pacjentów ze względu na wysokie wartości ciśnienia tętniczego (> 180/100 mm Hg) lub oporność na dotychczas stosowane leczenie (brak skutecznej kontroli [BP \geq 140/90 mm Hg] przy stosowaniu przynajmniej 3 leków w tym diuretyku) w celu wykluczenia wtórnych przyczyn nadciśnienia tętniczego wykonano dodatkowe badania obejmujące ocenę stężenia aldosteronu, aktywności reninowej osocza (ARO) i hormonu tyreotropowego (TSH) oraz mikroalbumin w 24-godzinnej zbiórce moczu. Oceniano również przepływy w tętnicach nerkowych za pomocą badania ultrasonograficzne (USG) metodą Dopplera oraz gruczoły nadnerczowe przy pomocy tomografii komputerowej z podaniem środka kontrastowego.



Rycina 6. Schemat badania.

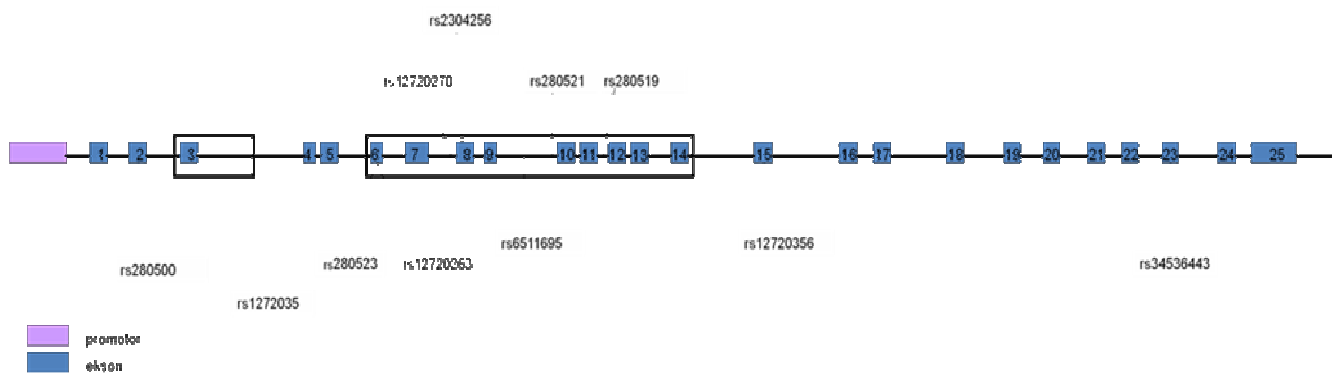
7. Selekcja polimorfizmów pojedynczych nukleotydów

Do badania na podstawie danych literaturowych z lat 2000-2011 wybrano 92 polimorfizmy pojedynczych nukleotydów występujące w analizowanych genach: *TYK2* (ryc. 7), *JAK3*, *CISH*, *SOCS1* (ryc. 8), *SOCS3*, *STAT1*, *STAT3* (tabela 6). Selekcję SNP rozpoczęto od oceny liczby i lokalizacji polimorfizmów w wybranych genach, za pomocą bazy danych SNPper (<http://snpper.chip.org>) oraz NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

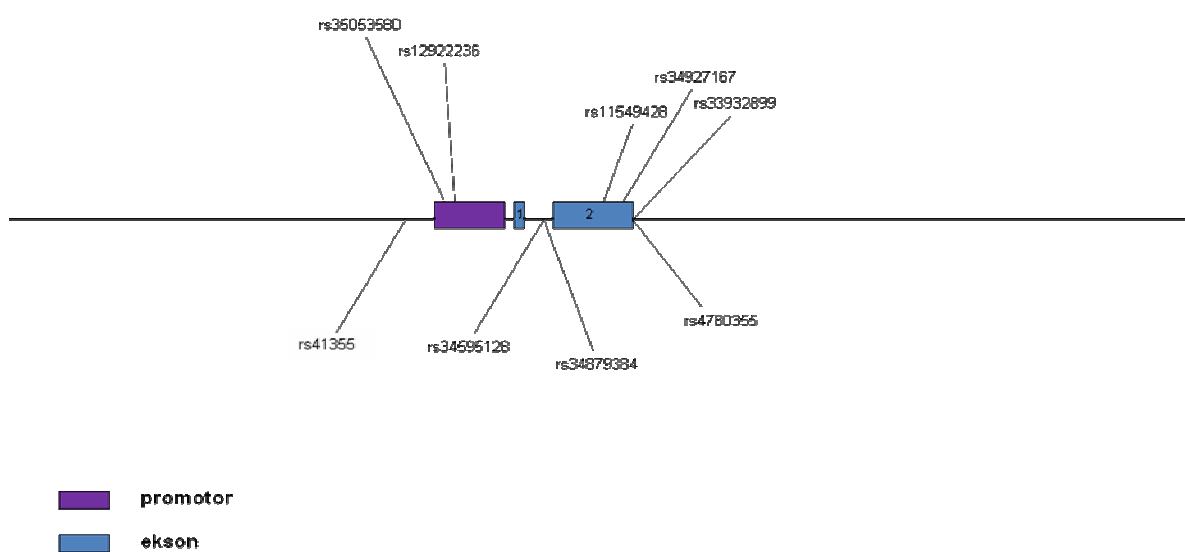
Gen	Liczba opisanych SNP	Liczba SNP wybranych do analizy
<i>TYK2</i>	419	11
<i>JAK3</i>	357	14
<i>CISH</i>	116	13
<i>SOCS1</i>	211	9
<i>SOCS3</i>	141	9
<i>STAT1</i>	448	21
<i>STAT3</i>	558	15

Tabela 6. Liczba opisanych i badanych SNP w wybranych genach.

Do analizy włączono zwalidowane SNP. Podczas wyboru polimorfizmów zwracano uwagę na częstotliwość ich występowania w populacji północno- i zachodnioeuropejskiej (CEU) i eliminowano z dalszej analizy SNP, które w tej populacji są monoalleliczne. Chcąc uniknąć oznaczania segregujących ze sobą polimorfizmów oceniano niezrównoważenie sprzężeń (LD) pomiędzy SNP za pomocą programu Haploview i wybierano SNP znakujący haplotyp (tagging SNP). Dodatkowymi kryteriami włączenia SNP do analizy był wpływ na zmianę w sekwencji aminokwasowej oraz udowodniony związek z występowaniem chorób zapalnych u ludzi.



Rycina 7. Umiejscowienie wybranych SNP w genie *TYK2*.



Rycina 8. Umiejscowienie wybranych SNP w genie *SOCS1*.

8. Metody oceny materiału biologicznego

Badania laboratoryjne

Badania laboratoryjne zostały wykonane w Laboratorium Szpitala Przemienienia Pańskiego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu oraz w Pracowni Diagnostyki Laboratoryjnej Nadciśnienia Tętniczego Katedry i Kliniki Hipertensjologii, Angiologii i Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

Ocenie laboratoryjnej poddano:

- stężenia jonów sodu (norma: 136-145 mmol/l) i potasu (3,5-5,1 mmol/l) w surowicy krwi żyłnej metodą standardową
- stężenie cholesterolu całkowitego (TC) w surowicy metodą standardową (norma: 3,62-5,20 mmol/l), z podziałem na frakcje LDL (norma: 2,6-3,3 mmol/l) i HDL (norma: dla kobiet 1,0-2,0 mmol/l; dla mężczyzn 0,9-1,55 mmol/l).
- stężenie trójglicerydów (TGL) w surowicy metodą standardową (norma: 0,6-1,7 mmol/l)
- stężenie glukozy w surowicy metodą standardową (norma: 3,9-5,6 mmol/l)
- stężenie kwasu moczowego w surowicy metodą standardową (norma: 2,6-7,2 mg/dl)
- kreatyniny (53,0-115,0 μ mol/l) w surowicy metodą standardową oraz obliczono wskaźnik filtracji kłębuszkowej (eGFR) wg Modification of Diet In Renal Disease Study Equation (MDRD) [114] (norma: 90-120 ml/min/1,73m²)
- liczbę leukocytów (WBC) metodą standardową (norma 4,0-11,0 G/l)
- stężenie białka C-reaktywnego (hsCRP) w surowicy metodą wysoce czułą (norma: <5,0 mg/l)
- szybkość opadania krwinek czerwonych (ESR) (norma: dla kobiet 3-15 mm/h; dla mężczyzn 1-10 mm/h),
- stężenie wydalanych albumin z moczem metodą immunoturbidymetryczną (w wybranych przypadkach) (norma < 30 mg/dobę)
- stężenie hormonu tyreotropowego (TSH) (norma: 0,55-4,78 μ U/l), wolnej trójjodotyroniny (fT3) (norma: 2,3-4,2 pg/ml) i wolnej tyroksyny (fT4) w surowicy (norma: 0,89-1,76 ng/dl) (w wybranych przypadkach)

- stężenie aldosteronu w surowicy metodą radioimmunologiczną (norma dla pomiaru w pozycji poziomej: 8-172 pg/ml; norma dla pomiaru w pozycji pionowej 30-355 pg/ml) (w wybranych przypadkach)
- aktywność reninową osocza (ARO) metodą radioimmunologiczną (w wybranych przypadkach) (norma dla pomiaru w pozycji poziomej: 0,5-1,9 ng/ml/h; norma dla pomiaru w pozycji pionowej: 30-355 ng/ml/h)

Analiza genotypu

W celu uzyskania materiału genetycznego z pobranej krwi żyłnej dokonywano liza erytrocytów i izolacji DNA metodą wysokosolną. Materiał uzyskany od ochotników grupy kontrolnej był poddawany preparatyce niezwłocznie po pobraniu krwi, zaś materiał pobrany od pacjentów z nadciśnieniem tętniczym, po pobraniu był mrożony w temp. - 20 °C, a następnie rozmrażany i poddawany procedurze izolacji DNA. Analiza genotypu została wykonana w Zakładzie Genetyki Molekularnej Człowieka Instytutu Biologii Molekularnej i Biotechnologii na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.

Liza erytrocytów

W celu uzyskania materiału genetycznego z 9 ml pełnej krwi żyłnej pobranej na EDTA dodawano 18 ml buforu zawierającego: NH_4Cl , KHCO_3 , EDTA o pH równym 7.4. Wysokie stężenie jonów amonowych powodowało pęcznienie erytrocytów i pękanie błon komórkowych. Reakcję przeprowadzano 20 minut, następnie mieszaninę wirowano przez 10 minut z szybkością 2100 rpm w celu oddzielenia resztek ze zlizowanych erytrocytów od komórek jednojądrzastych krwi. Po wirowaniu usuwano supernatant, a osad przemywano roztworem PBS (NaCl , $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , KCl) i wirowano przez 10 minut z szybkością 2100 rpm. Procedurę przemywania i wirowania powtarzano trzykrotnie. Uzyskany osad komórek jednojądrzastych krwi obwodowej rozpuszczano w 2 ml buforu izolacyjnego o pH 8.0 (NaCl , EDTA, Tris) i przechowywano w temperaturze - 20 °C.

Izolacja DNA metodą wysokosolną

Izolację DNA rozpoczynano od rozmrożenia na lodzie, osadu komórek jednojądrzastych uzyskanego po lizie erytrocytów. Do rozmrożonego materiału w celu strawienia białek dodawano 100 µl proteiny K (4.5 mg/ml), 300 µl 10 % SDS - aktywatora proteiny oraz bufor do izolacji (NaCl, EDTA, Tris, pH 8.0) uzupełniający objętość roztworu do 3 ml. Materiał dokładnie mieszano i pozostawiano na noc w temperaturze 56° C, w łaźni wodnej. Kolejnego dnia do roztworu dodawano 1 ml 6M NaCl w celu precypitacji białek i ostrożnie mieszano. Następnie mieszaninę wirowano z szybkością 13 000 rpm przez 10 minut w temperaturze 4° C. Uzyskany supernatant zawierał DNA, a w osadzie pozostawały białka. Do 20 ml schłodzonego, 96% etanolu jednym ruchem przelewano supernatant. Aby osiągnąć wydajniejszą precypitację DNA próbki odkładano na lód. W przeciągu kilku minut pojawił się precypitat DNA, który po przemieszczeniu się ku górze i odłączeniu od innych faz był przenoszony do kolejnej próbki. Następnie przemywano precypitat DNA 70% etanolem, a osad rozpuszczano w 200 µl buforu TE (Tris, EDTA, pH 8.0).

Ocena stężenia DNA

Kolejnym etapem analizy materiału biologicznego była ocena stężenia i czystości uzyskanego DNA, którą wykonywano metodą spektrometryczną za pomocą urządzenia NanoDrop firmy Thermo Scientific. Do dalszych badań używano DNA, którego stosunek absorpcji OD 260/280 wynosił 1,8-2,0, wszystkie próby rozcieńczono do stężenia 25 ng/µl.

Oznaczanie polimorfizmów

Oznaczenie polimorfizmów wykonano w Zakładzie Genetyki Molekularnej Człowieka Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu przy pomocy aparatu BeadXpress® Reader firmy Illumina wykorzystując metodę *GoldenGate® Genotyping for VeraCode®* (Illumina). Metoda ta polega na hybrydyzacji wyznakowanych fluorescencyjnie fragmentów DNA do nośników stałych - mikrokulek - posiadających identyfikacyjny kod holograficzny oraz odczyt sekwencji SNP na podstawie analizy fluorescencji w skanerze wyposażonym w dwukolorowy laser. Przed rozpoczęciem prac laboratoryjnych, przy pomocy programu Illumina Design Studio (<http://designstudio.illumina.com/>) zaprojektowano oligonukleotydy specyficzne do

wybranych SNP. Kluczowe etapy *GoldenGate® Genotyping for VeraCode®* zostały opisane poniżej i przedstawione na rycinie 9.

Etap I - Aktywacja genomowego DNA

250 ng genomowego DNA aktywowano za pomocą chemicznej modyfikacji biotyną, dzięki czemu w kolejnych etapach możliwe było przyłączenie zaktywowanego (biotynylowanego) DNA do cząstek paramagnetycznych opłaszczonych streptawidyną (ryc. 9A).

Etap II - Hybrydyzacja

Biotynylowane DNA hybrydyzowano z oligonukleotydami oraz cząstkami paramagnetycznymi. W reakcji wykorzystuje się trzy oligonukleotydy dedykowane dla każdego z analizowanych SNP, dwa z nich są specyficzne dla alleli badanego SNP (ASO, gdzie ostatni nukleotyd na końcu 3' odpowiada jednemu z dwóch wariantów sekwencji), natomiast trzeci jest specyficzny dla *locus* SNP (LSO) i zlokalizowany jest w odległości 1-20 nukleotydów od badanego SNP (ryc. 9B). Każdy z użytych do reakcji oligonukleotydów (ASO1, ASO2, LSO) zawiera sekwencję komplementarną do genomowego DNA w regionie analizowanego SNP oraz sekwencję uniwersalną, komplementarną do starterów reakcji PCR używanych w późniejszych etapach procedury (sekwencje oznaczone odpowiednio kolorami żółtym, pomarańczowym i zielonym, rycina 9B). Ponadto, LSO zawiera unikalną sekwencję adresową (zaznaczoną kolorem niebieskim, rycina 9B) komplementarną do specyficznych oligonukleotydów nadrukowanych na mikrokulkach VeraCode®.

Etap III - Wydłużanie i łączenie fragmentów DNA

Po hybrydyzacji oczyszczano próbki z niezwiązanych lub niespecyficznie związanych oligonukleotydów poprzez ich wielokrotne przemywanie, a utracie DNA zapobiegało utworzenia kompleksu między biotynylowanym DNA a cząstkami paramagnetyka opłaszczonymi streptawidyną, unieruchomionymi na płycie magnetycznej. Następnie do reakcji podawano mieszaninę enzymów zawierającą polimerazę oraz ligazę DNA. Polimeraza wydłuża jedynie te ASO, które na końcu 3' są idealnie komplementarne do matrycy w miejscu SNP wypełniając jednocześnie przerwę między ASO i LSO. Następnie ligaza DNA łączy wydłużony fragment z LSO, dzięki czemu powstaje matryca do reakcji PCR, która zawiera zarówno informację o genotypie w miejscu badanego SNP oraz specyficzną sekwencję adresową (ryc. 9C).

Etap IV - Amplifikacja DNA (reakcja PCR)

W reakcji PCR wykorzystuje się trzy uniwersalne startery P1, P2, P3, komplementarne do uniwersalnych sekwencji oligonukleotydów ASO1, ASO2 oraz LSO. Startery komplementarne do ASO (P1 i P2) znakowane są na końcu 5' dwoma różnymi fluorochromami: cyjaniną-3 (Cy3) - kolor zielony oraz cyjaniną-5 (Cy5) - kolor czerwony, natomiast starter komplementarny do LSO (P3) znakowany jest na końcu 5' biotyną (ryc. 9D).

Etap V - Wiązanie produktów PCR i elucja jednoniciowych fragmentów DNA

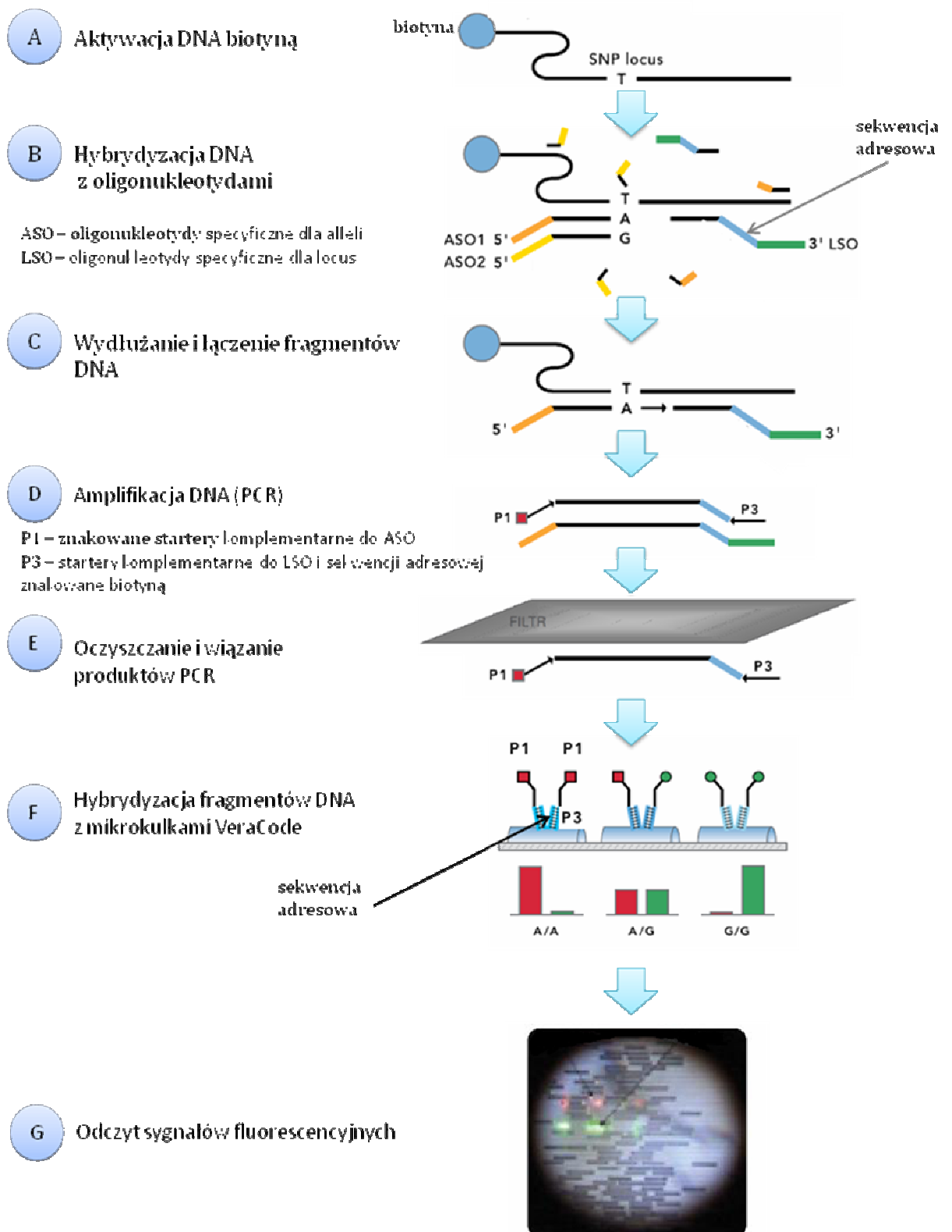
Dwuniciowe produkty PCR łączono z cząstkami paramagnetyka i nakładano na płytkę z filtrem PVDF o średnicy porów 0,45 μm . Następnie za pomocą roztworu 0,1 N NaOH denaturowano produkt PCR i eluowano wyznakowaną fluorescencyjnie nić, podczas gdy nić biotynylowana połączona z cząstkami paramagnetyka pozostawała na filtrze (ryc. 9E).

Etap VI - Hybrydyzacja fragmentów DNA z mikrokulkami VeraCode®

Jednoniciowie, wyznakowane fluorescencyjnie fragmenty DNA (Cy3 i/lub Cy5) hybrydyzowano do mikrokulek VeraCode® dzięki obecności unikalnej sekwencji adresowej, komplementarnej do oligonukleotydów nadrukowanych na całej powierzchni mikrokulek, dzięki czemu do jednej mikrokulki mogły się przyłączyć wyłącznie fragmenty DNA dla pojedynczego SNP (ryc. 9F). Ponadto, przyłączenie wielu jednakowych fragmentów DNA służy wzmocnieniu intensywności sygnału fluorescencyjnego podczas skanowania mikrokulek.

Etap VII - Skanowanie i analiza sekwencji SNP

Odczyt fluorescencji oraz sekwencji adresowej dla poszczególnych mikrokulek VeraCode® wykonany został przy zastosowaniu urządzenia BeadXpress® Reader (Illumina). Podczas skanowania wiązki laserów emitujących fale o długości 550 nm i 650 nm, odczytywały rodzaj fluorescencji, zielonej dla fluorochromu Cy3 absorbującego fale o długości 550 nm oraz czerwonej dla fluorochromu Cy5 absorbującego fale o długości 650 nm (ryc. 9G). Równocześnie odczytywany był unikatowy kod dla poszczególnych mikrokulek, który pozwala na szybką i wysoce specyficzną identyfikację poszczególnych SNP. Dane wygenerowane przez BeadXpress® Reader analizowano następnie przy pomocy oprogramowania GenomStudio Software firmy Illumina, które pozwala na automatyczne grupowanie genotypów i odczyt sekwencji SNP.



Rycina 9. Etapy analizy polimorfizmów metodą *GoldenGate® Genotyping for VeraCode®*. Opracowano na podstawie *GoldenGate® Genotyping with VeraCode® Technology, Technical Note: SNP Genotyping* [115].

9. Analiza statystyczna wyników

Do analiz statystycznych wyników wykorzystano program Statistica wersja 6.0. Normalność rozkładu danych w skali interwałowej oceniano za pomocą testu Kołmogorowa-Smirnowa. Oceniając różnicę w zakresie porównywanych parametrów pomiędzy grupami, gdy uzyskano rozkład normalny używano testu t-Studenta. Dane interwałowe bez rozkładu normalnego oraz dane w skali porządkowej oceniane były testem Manna-Whitney'a. Porównania parametrów w skali nominalnej dokonano za pomocą testów χ^2 lub Fishera w zależności od liczebności porównywanych grup. Porównania częstość występowania ocenianych alleli w grupie kontrolnej z oczekiwaną częstością wynikającą z równania Hardy-Weinberga dokonano za pomocą kalkulatora udostępnionego przez Tufts University [116]. W celu wykazania istotności związku polimorfizmów pojedynczych nukleotydów na występowanie nadciśnienia tętniczego, niezależnie od innych ocenianych parametrów dokonano analizy regresji logistycznej. W modelu regresji ujęto czynniki, których różnice między grupami były istotne, z wyjątkiem elementów redundantnych (WHR, HDL i LDL). Następnie z modelu wyeliminowano parametry, które utraciły istotność z wyjątkiem płci i włączano SNP, których występowanie istotnie różniło się pomiędzy badanymi grupami.

Wyniki prezentowane są jako wartości średnie \pm odchylenie standardowe (SD) dla danych kategorii interwałowej o rozkładzie normalnym. Mediany i rozstęp międzykwartyłowy zaprezentowano dla danych w skali interwałowej o rozkładzie nienormalnym oraz danych w skali porządkowej. Dane w skali nominalnej zostały przedstawione jako procent całości. Za znamienne statystycznie uznano wyniki o prawdopodobieństwie wystąpienia błędu $p < 0,05$.

WYNIKI

W analizie końcowej ujęto 324 osoby. Średni wiek uczestników badania wyniósł $30,46 \pm 9,00$ lat, większość ochotników stanowili mężczyźni (54,76 %). SBP w całej analizowanej grupie średnio wynosiło $153,75 \pm 37,61$ mm Hg, a DBP $95,63 \pm 23,74$ mm Hg. Średni wskaźnik masy ciała badanych osób wykroczył poza przyjętą normę i wyniósł $25,16 \pm 5,16$ kg/m². Parametry reakcji zapalnej kształtowały się w granicach przyjętych norm osiągając średnie równe dla hsCRP $2,34 \pm 1,88$ mg/l, WBC $6,38 \pm 1,71$ 10⁹/l i ESR $4,68 \pm 4,48$ mm/h, 17,55 % ochotników paliło papierosy. Szczegółową charakterystykę uczestników badania podano w tabeli 7.

Oceniane zmienne	średnia \pm SD
Wiek [lata]	30,46 \pm 9,00
Płeć (n) K/M	152/184
SBP [mm Hg]	153,75 \pm 37,61
DBP [mm Hg]	95,63 \pm 23,74
BMI [kg/m ²]	25,16 \pm 5,16
WHR	0,84 \pm 0,10
TC [mmol/l]	5,22 \pm 1,14
HDL [mmol/l]	1,45 \pm 0,34
LDL [mmol/l]	3,16 \pm 0,97
TGL [mmol/l]	1,35 \pm 0,97
Glukoza [mmol/l]	5,08 \pm 0,50
Kwas moczowy [mg/dl]	5,29 \pm 1,46
eGFR (ml/min/1,73m ²)	102,79 \pm 19,86
WBC [10 ⁹ /l]	6,38 \pm 1,71
hsCRP[mg/l]	2,34 \pm 1,88
ESR [mm/h]	4,68 \pm 4,48
Palenie papierosów n (%)	59,00 (17,55)

Tabela 7. Charakterystyka uczestników badania.

SBP - skurczowe ciśnienie tętnicze, DBP - rozkurczowe ciśnienie tętnicze, BMI - wskaźnik masy ciała, WHR - wskaźnik talia biodra, TC - całkowity cholesterol, LDL - frakcja cholesterolu niskiej gęstości, HDL - frakcja cholesterolu wysokiej gęstości, TGL - trójglicerydy, eGFR - szacowany współczynnik przesączania kłębuszkowego, ESR - współczynnik opadania krwinek czerwonych (odczyn Biernackiego), WBC - białe krwinki, hsCRP - białko C-reaktywne oznaczane metodą wysoce czułą.

W pierwszym etapie analizy porównano różnice w wynikach pomiarów antropometrycznych, wybranych elementów stylu życia i uzyskanych wyników badań laboratoryjnych pomiędzy osobami z nadciśnieniem tętniczym a zdrowymi. Grupy istotnie różniły się pod względem wieku 23 (22-27) v 35 (27-42) lat, odpowiednio w grupie kontrolnej i badanej ($p < 0,01$) oraz płci 66,24 % kobiet w grupie kontrolnej i 26,81 % kobiet w grupie badanej ($p < 0,01$). Istotne różnice zaobserwowano również w BMI 21,71 (19,98-23,86) v 27,17 (24,00-30,93) kg/m^2 ($p < 0,01$) i WHR $0,77 \pm 0,07$ v $0,91 \pm 0,08$ ($p < 0,01$) odpowiednio dla grupy badanej i kontrolnej. W ocenie ciśnienia tętniczego mediany analizowanych grupy różniły się o 60/35 mm Hg. Osoby z grupy badanej istotnie częściej paliły papierosy 29,60 % v 14,50 % ($p < 0,01$). Szczegółowe wyniki porównań analizowanych parametrów antropometrycznych i elementów stylu życia pomiędzy grupami przedstawiono w tabeli 8.

Oceniane zmienne	Grupa kontrolna	Grupa badana	P
Wiek [lata]	23 (22-27)	35 (27-42)	<0,01
Płeć (K)	104 (66,24)	48 (26,81)	<0,01
SBP [mm Hg]	120 (110-126,5)	180 (165-200)	<0,01
DBP [mm Hg]	75 (70-80)	110 (100-120)	<0,01
BMI [kg/m^2]	21,71 (19,98-23,86)	27,17 (24,00-30,93)	<0,01
WHR	$0,77 \pm 0,07$	$0,91 \pm 0,08$	<0,01
Palenie papierosów	14,50	29,60	<0,01

Tabela 8. Porównanie zmiennych antropometrycznych i wybranych elementów stylu życia. SBP - skurczowe ciśnienie tętnicze, DBP - rozkurczowe ciśnienie tętnicze, BMI - wskaźnik masy ciała, WHR - wskaźnik talia biodra.

Również parametry metaboliczne istotnie różniły się pomiędzy analizowanymi grupami, średni całkowity cholesterol w grupie kontrolnej wyniósł $4,75 \pm 0,93$ mmol/l, zaś w grupie badanej $5,43 \pm 1,16$ mmol/l ($p < 0,01$), frakcja HDL odpowiednio $1,58 \pm 0,33$ v $1,39 \pm 0,32$ mmol/l ($p < 0,01$), frakcja LDL $2,74 \pm 0,76$ v $3,34 \pm 0,99$ mmol/l ($p < 0,01$), a glikemia $4,78 \pm 0,41$ v $5,21 \pm 0,49$ mmol/l ($p < 0,01$). W ocenie czynników

reakcji zapalnej istotną różnicę zaobserwowano jedynie w liczbie WBC, która w grupie kontrolnej była niższa $5,67 \cdot 10^9/l$ niż w grupie badanej $6,68 \cdot 10^9/l$ ($p < 0,01$). Wyniki porównań parametrów biochemicznych przedstawiono w tabeli 9.

Oceniane zmienne	Grupa kontrolna	Grupa badana	p
TC [mmol/l]	4,75 ± 0,93	5,43 ± 1,16	<0,01
HDL [mmol/l]	1,58 ± 0,33	1,39 ± 0,32	<0,01
LDL [mmol/l]	2,74 ± 0,76	3,34 ± 0,99	<0,01
TGL [mmol/l]	0,80 (0,53-1,06)	1,21 (0,81-1,86)	<0,01
Glukoza [mmol/l]	4,78 ± 0,41	5,21 ± 0,49	<0,01
Kwas moczowy [mg/dl]	4,48 ± 1,03	5,66 ± 1,49	<0,01
eGFR (ml/min/1,73m ²)	103,69 ± 18,26	102,37 ± 20,61	0,63
WBC [$10^9/l$]	5,67 ± 1,39	6,68 ± 1,74	<0,01
hsCRP[mg/l]	1,6 (1,2-2,2)	1,9 (1,3-3,1)	0,06
ESR [mm/h]	3 (2-6)	2 (2-5)	0,39

Tabela 9. Porównanie parametrów biochemicznych.

TC - całkowity cholesterol, LDL - frakcja cholesterolu niskiej gęstości, HDL - frakcja cholesterolu wysokiej gęstości, TGL - trójglicerydy, eGFR - szacowany współczynnik przesączania kłębuszkowego, ESR - współczynnik opadania krwinek czerwonych (odczyn Biernackiego), WBC - białe krwinki, hsCRP - białko C-reaktywne oznaczane metodą wysoce czułą.

Kolejnym elementem analizy była ocena występowania badanych SNP. Z 92 ocenianych polimorfizmów pojedynczych nukleotydów w 7 przypadkach nie udało się uzyskać wyników przynajmniej w jednej z analizowanych grup (tabela 10).

W przypadkach 22 SNP występował tylko jeden allel (tabela 11). Pozostałe 63 polimorfizmy pojedynczych nukleotydów poddano dalszym analizom. Dokonano porównania częstość występowania ocenianych alleli w grupie kontrolnej z oczekiwaną częstością wynikającą z równania Hardy-Weinberga. W przypadku ośmiu SNP (seqrs622502, rs8064821, rs13029532, rs1547550, rs2280232, rs3816769, rs744166, rs9891119) częstości występowania w ocenianych grupach były istotnie różne od oczekiwanych (tabela 14).

Gen	SNP
<i>CISH</i>	rs419202
<i>JAK3</i>	rs2302600
<i>STAT1</i>	rs12693590
<i>STAT3</i>	rs2293152
<i>STAT3</i>	rs78519977
<i>SOCS1</i>	rs34879384
<i>SOCS3</i>	rs4969168

Tabela 10. SNP, dla których nie uzyskano wyników.

Gen	SNP	Gen	SNP
<i>CISH</i>	rs419160	<i>SOCS3</i>	rs1061489
<i>CISH</i>	rs420060	<i>SOCS3</i>	rs17849241
<i>CISH</i>	rs454386	<i>SOCS3</i>	rs75383733
<i>CISH</i>	rs76541284	<i>SOCS3</i>	seqrs12059
<i>CISH</i>	rs969391	<i>STAT1</i>	rs41473544
<i>JAK3</i>	rs3213408	<i>STAT1</i>	seqrs1803838
<i>JAK3</i>	rs56061056	<i>STAT3</i>	seqrs1141116
<i>SOCS1</i>	rs12922236	<i>STAT3</i>	seqrs11547455
<i>SOCS1</i>	rs34927167	<i>STAT3</i>	seqrs1141129
<i>SOCS1</i>	rs35053580	<i>TYK2</i>	rs12720263
<i>SOCS1</i>	rs41355	<i>TYK2</i>	rs34536443

Tabela 11. SNP monoalleliczne w badanej populacji.

Przeprowadzona analiza częstości występowania alleli poszczególnych SNP w grupie kontrolnej badanej populacji z danymi zawartymi w bazie HapMap dla populacji północno- i zachodnioeuropejskiej (CEU) nie wykazała istotnych różnic (tabela 12). Jedyne różnica częstości występowania alleli SNP rs743753, genu *CISH*

była na granicy istotności statystycznej ($p=0,05$). W przypadku ośmiu ocenianych SNP brak jest aktualnie danych w bazie HapMap na temat częstości występowania alleli w populacji europejskiej (tabela 13).

Gen	SNP	Częstości alleli w grupie kontrolnej		Częstości alleli w bazie HapMap		p
<i>CISH</i>	rs175634	T 0,80	C 0,20	T 0,83	C 0,17	0,52
<i>CISH</i>	rs201194	T 0,82	C 0,18	T 0,84	C 0,16	0,75
<i>CISH</i>	rs2239751	T 0,99	G 0,01	T 0,99	G 0,01	0,75
<i>CISH</i>	rs743753	C 0,95	T 0,05	C 0,99	T 0,01	0,05
<i>CISH</i>	rs809451	C 0,81	G 0,19	C 0,80	G 0,20	0,85
<i>JAK3</i>	rs2110586	C 0,76	T 0,24	C 0,76	T 0,24	0,87
<i>JAK3</i>	rs3008	A 0,54	G 0,46	A 0,56	G 0,44	0,73
<i>JAK3</i>	rs3212701	C 0,77	T 0,23	C 0,77	T 0,23	0,89
<i>JAK3</i>	rs3212714	G 0,74	A 0,26	G 0,74	A 0,26	0,98
<i>JAK3</i>	rs3212752	T 0,88	C 0,13	T 0,93	C 0,07	0,13
<i>JAK3</i>	rs3212760	A 0,71	G 0,29	A 0,63	G 0,37	0,13
<i>JAK3</i>	rs3213409	C 0,98	T 0,02	C 0,99	T 0,01	1,00
<i>JAK3</i>	rs7250423	C 0,89	T 0,11	C 0,94	T 0,06	0,13
<i>SOCS1</i>	rs243324	A 0,56	G 0,44	A 0,54	G 0,46	0,66
<i>SOCS1</i>	rs4780355	T 0,63	C 0,37	T 0,71	C 0,29	0,14
<i>SOCS3</i>	rs2280148	T 0,98	C 0,02	T 0,99	C 0,01	0,68
<i>SOCS3</i>	rs4969170	G 0,62	A 0,38	G 0,63	A 0,37	0,84
<i>STAT1</i>	rs10173099	C 0,72	T 0,28	C 0,66	T 0,34	0,20
<i>STAT1</i>	rs10199181	A 0,66	T 0,34	A 0,61	T 0,39	0,34

Gen	SNP	Częstości alleli w grupie kontrolnej		Częstości alleli w bazie HapMap		p
STAT1	rs12468579	A 0,65	G 0,35	A 0,54	G 0,46	0,18
STAT1	rs12693591	C 0,89	A 0,11	C 0,89	A 0,11	0,96
STAT1	rs13010343	G 0,91	A 0,09	G 0,86	A 0,14	0,08
STAT1	rs13029247	T 0,75	C 0,25	T 0,68	C 0,32	0,16
STAT1	rs16833177	T 0,82	C 0,18	T 0,75	C 0,25	0,10
STAT1	rs17749316	C 0,87	G 0,13	C 0,92	G 0,08	0,27
STAT1	rs2066802	A 0,94	G 0,06	A 0,95	G 0,05	0,88
STAT1	rs2066804	G 0,76	A 0,24	G 0,74	A 0,26	0,64
STAT1	rs2280234	G 0,65	A 0,35	G 0,65	A 0,35	0,91
STAT1	rs34997637	G 0,78	A 0,22	G 0,74	A 0,26	0,41
STAT1	rs3771300	T 0,59	G 0,41	T 0,52	G 0,48	0,19
STAT1	rs6718902	C 0,77	T 0,23	C 0,74	T 0,26	0,48
STAT1	rs867637	G 0,70	A 0,30	G 0,64	A 0,36	0,24
STAT3	rs1053004	A 0,65	G 0,35	A 0,61	G 0,39	0,45
STAT3	rs17593222	C 0,93	G 0,07	C 0,91	G 0,09	0,59
STAT3	rs3744483	T 0,83	C 0,17	T 0,80	C 0,20	0,52
STAT3	rs3785898	C 0,70	A 0,30	C 0,72	A 0,28	0,69
STAT3	rs4103200	G 0,72	C 0,28	G 0,74	C 0,26	0,86
STAT3	rs6503695	T 0,67	C 0,33	T 0,66	C 0,34	0,86
STAT3	rs9912773	C 0,75	G 0,25	C 0,73	G 0,27	0,64
TYK2	rs12720279	G 0,88	A 0,12	G 0,88	A 0,12	0,97
TYK2	rs12720352	C 0,94	A 0,06	C 0,93	A 0,07	0,59

Gen	SNP	Częstości alleli w grupie kontrolnej		Częstości alleli w bazie HapMap		p
<i>TYK2</i>	rs12720356	A	C	A	C	0,64
		0,91	0,09	0,89	0,11	
<i>TYK2</i>	rs280500	A	G	A	G	0,70
		0,86	0,14	0,87	0,13	
<i>TYK2</i>	rs280519	G	A	G	A	0,99
		0,51	0,49	0,51	0,49	
<i>TYK2</i>	rs280521	G	A	G	A	0,28
		0,88	0,12	0,86	0,16	
<i>TYK2</i>	rs280523	G	A	G	A	0,16
		0,95	0,05	0,92	0,08	
<i>TYK2</i>	rs6511695	C	T	C	T	0,64
		0,95	0,05	0,94	0,06	

Tabela 12. Analiza częstości występowania alleli w grupie kontrolnej badanej populacji i populacji europejskiej bazy HapMap.

Gen	SNP	Częstości alleli w grupie kontrolnej	
<i>CISH</i>	rs1872184	C	T
		0,99	0,01
<i>JAK3</i>	rs3212780	G	A
		0,75	0,25
<i>JAK3</i>	rs35458530	G	A
		0,97	0,03
<i>JAK3</i>	rs78955038	A	G
		0,99	0,01
<i>SOCS1</i>	rs33932899	C	G
		0,69	0,31
<i>SOCS1</i>	rs34595128	C	T
		0,99	0,01
<i>SOCS3</i>	rs4969169	C	T
		0,89	0,11
<i>TYK2</i>	rs12720270	G	A
		0,77	0,23

Tabela 13. Częstość występowania ocenianych alleli w populacji polskiej, dla których brak danych o częstości występowania w populacji europejskiej.

Częstość występowania czterech SNP była istotnie różna w badanych grupach, gdy analizowano genotypy. Polimorfizm rs3212701 genu *JAK3* częściej występował jako homozygota w grupie badanej niż w grupie kontrolnej 8,02 % v 2,56 % ($p=0,05$). SNP rs3212714 genu *JAK3* w grupie z nadciśnieniem tętniczym występował istotnie

częściej jako homozygota 12,96 % v 4,46 % ($p=0,02$). W genie *JAK3* wykazano istotną różnicę w częstości występowania homozygoty SNP rs3212760 15,24 % w grupie z nadciśnieniem tętniczym i 6,08 % w grupie kontrolnej ($p=0,02$). Polimorfizm rs16833177 w genie *STAT1* istotnie częściej był oznaczany jako homozygota 5,56 % w grupie osób chorych niż w grupie zdrowych 1,28 % ($p=0,04$). Wyniki porównań częstości występowania genotypów wszystkich analizowanych SNP przedstawiono w tabeli 14.

W analizie alleli u osób z nadciśnieniem tętniczym istotnie częściej występował SNP rs3212701 genu *JAK3* 29,94 % v 22,76 % ($p=0,04$), rs3212714 genu *JAK3* 33,33 % v 26,11 % ($p=0,04$) oraz SNP genu *JAK3* rs3212760 38,41 % v 29,05% ($p=0,01$). W grupie zdrowych ochotników częściej występował SNP rs809451 genu *CISH*, który zidentyfikowano u 12,65 % osób z nadciśnieniem tętniczym i 18,59 % zdrowych uczestników badania ($p=0,03$). Szczegółowe wyniki porównań częstości występowania alleli wszystkich analizowanych SNP, pomiędzy grupą badaną i kontrolną przedstawiono w tabeli 14.

Gen	SNP	Genotyp n (%)			H-W p	Chi ² p	Allele n (%)		OR (95 % CI)	Chi ² p
<i>CISH</i>	rs175634	TT	TC	CC	0,24	0,40	T	C	0,82 (0,55-1,22)	0,32
	grupa kontrolna	98 (62,42)	55 (35,03)	4 (2,55)			251 (79,94)	63 (20,06)		
	grupa badana	113 (68,9)	46 (28,05)	5 (3,05)			272 (82,93)	56 (17,07)		
<i>CISH</i>	rs1872184	CC	CT	TT	0,87	0,52	C	T	1,93 (0,57-6,50)	0,27
	grupa kontrolna	153 (97,45)	4 (2,55)	0 (0)			310 (98,73)	4 (1,27)		
	grupa badana	157 (95,73)	6 (3,66)	1 (0,61)			320 (97,56)	8 (2,44)		
<i>CISH</i>	rs201194	TT	TC	CC	0,13	0,71	T	C	0,89 (0,59-1,36)	0,61
	grupa kontrolna	100 (66,23)	49 (32,45)	2 (1,32)			249 (82,45)	53 (17,55)		
	grupa badana	115 (69,70)	47 (28,48)	3 (1,82)			277 (83,94)	53 (16,06)		
<i>CISH</i>	rs2239751	TT	TG	GG	0,88	0,66	T	G	0,71 (0,15-3,24)	0,66
	grupa kontrolna	152 (97,44)	4 (2,56)	0 (0)			308 (98,72)	4 (1,28)		
	grupa badana	159 (98,15)	3 (1,85)	0 (0)			321 (99,07)	3 (0,93)		
<i>CISH</i>	rs743753	CC	CT	TT	0,49	0,39	C	T	1,16 (0,51-2,62)	0,71
	grupa kontrolna	137 (89,54)	16 (10,46)	0 (0)			290 (94,77)	16 (5,23)		
	grupa badana	74 (89,16)	8 (9,64)	1 (1,2)			156 (93,98)	10 (6,02)		
<i>CISH</i>	rs809451	CC	CG	GG	0,07	0,34	C	G	0,63 (0,41-0,97)	0,03
	grupa kontrolna	100 (64,1)	54 (34,62)	2 (1,28)			254 (81,41)	58 (18,59)		
	grupa badana	124 (76,54)	35 (21,6)	3 (1,85)			283 (87,35)	41 (12,65)		
<i>CISH</i>	seqrs622502				0,04	-			-	-
	grupa kontrolna	101 (66,01)	51 (33,33)	1 (0,65)			253 (82,68)	53 (17,32)		
	grupa badana	119 (73,01)	41 (25,15)	3 (1,84)			279 (85,58)	47 (14,42)		
<i>JAK3</i>	rs2110586	CC	CT	TT	0,11	0,22	C	T	0,66 (0,39-1,10)	0,11
	grupa kontrolna	86 (56,21)	62 (40,52)	5 (3,27)			234 (76,47)	72 (23,53)		
	grupa badana	48 (67,61)	22 (30,99)	1 (1,41)			118 (83,10)	24 (16,90)		

Gen	SNP	Genotyp n (%)			H-W p	Chi ² p	Allele n (%)		OR (95 % CI)	Chi ² p
JAK3	rs3008	AA	AG	GG	0,62	0,87	A	G	1,04 (0,76-1,43)	0,78
	grupa kontrolna	46 (30,07)	73 (47,71)	34 (22,22)			165 (53,92)	141 (46,08)		
	grupa badana	44 (27,67)	80 (50,31)	35 (22,01)			168 (52,83)	150 (47,17)		
JAK3	rs3212701	CC	CT	TT	0,06	0,05	C	T	1,45 (1,01-2,07)	0,04
	grupa kontrolna	89 (57,05)	63 (40,38)	4 (2,56)			241 (77,24)	71 (22,76)		
	grupa badana	78 (48,15)	71 (43,83)	13 (8,02)			227 (70,06)	97 (29,94)		
JAK3	rs3212714	GG	GA	AA	0,12	0,02	G	A	1,41 (1,00-1,99)	0,04
	grupa kontrolna	82 (52,23)	68 (43,31)	7 (4,46)			232 (73,89)	82 (26,11)		
	grupa badana	75 (46,3)	66 (40,74)	21 (12,96)			216 (66,67)	108 (33,33)		
JAK3	rs3212752	TT	TC	CC	0,29	0,26	T	C	0,93 (0,58-1,50)	0,79
	grupa kontrolna	118 (75,64)	37 (23,72)	1 (0,64)			273 (87,50)	39 (12,50)		
	grupa badana	130 (78,79)	31 (18,79)	4 (2,42)			291 (88,18)	39 (11,82)		
JAK3	rs3212760	AA	AG	GG	0,16	0,02	A	G	1,52 (1,08-2,13)	0,013
	grupa kontrolna	71 (47,97)	68 (45,95)	9 (6,08)			210 (70,95)	86 (29,05)		
	grupa badana	63 (38,41)	76 (46,34)	25 (15,24)			202 (61,59)	126 (38,41)		
JAK3	rs3212780	GG	GA	AA	0,87	0,33	G	A	1,17 (0,82-1,67)	0,37
	grupa kontrolna	87 (56,49)	58 (37,66)	9 (5,84)			232 (75,32)	76 (24,68)		
	grupa badana	90 (54,88)	57 (34,76)	17 (10,37)			237 (72,26)	91 (27,74)		
JAK3	rs3213409	CC	CT	TT	0,83	0,42	C	T	0,56 (0,13-2,36)	0,42
	grupa kontrolna	152 (96,82)	5 (3,18)	0 (0)			309 (98,41)	5 (1,59)		
	grupa badana	164 (98,20)	3 (1,80)	0 (0)			331 (99,10)	3 (0,90)		
JAK3	rs35458530	GG	GA	AA	0,71	0,06	G	A	0,31 (0,08-1,16)	0,06
	grupa kontrolna	148 (94,27)	9 (5,73)	0 (0)			305 (97,13)	9 (2,87)		
	grupa badana	162 (98,18)	3 (1,82)	0 (0)			327 (99,09)	3 (0,91)		

Gen	SNP	Genotyp n (%)			H-W p	Chi ² p	Allele n (%)		OR (95 % CI)	Chi ² p
JAK3	rs7250423	CC	CT	TT	0,11	0,36	C	T	0,82 (0,49-1,37)	0,46
	grupa kontrolna	120 (77,42)	35 (22,58)	0 (0)			275 (88,71)	35 (11,29)		
JAK3	rs78955038	AA	AG	GG	0,87	0,63	A	G	0,69 (0,15-3,14)	0,63
	grupa kontrolna	151 (97,42)	4 (2,58)	0 (0)			306 (98,71)	4 (1,29)		
SOCS1	rs243324	AA	AG	GG	0,09	0,08	A	G	1,33 (0,97-1,81)	0,07
	grupa kontrolna	44 (28,57)	86 (55,84)	24 (15,58)			174 (56,49)	134 (43,51)		
SOCS1	rs33932899	CC	CG	GG	0,93	0,38	C	G	1,17 (0,83-1,65)	0,34
	grupa kontrolna	75 (48,08)	66 (42,31)	15 (9,62)			216 (69,23)	96 (30,77)		
SOCS1	rs34595128	CC	CT	TT	0,96	0,12	C	T	4,53 (0,52-39,02)	0,13
	grupa kontrolna	144 (99,31)	1 (0,69)	0 (0)			289 (99,66)	1 (0,34)		
SOCS1	rs4780355	TT	TC	CC	0,79	0,47	T	C	1,02 (0,73-1,44)	0,87
	grupa kontrolna	62 (40,79)	69 (45,39)	21 (13,82)			193 (63,49)	111 (36,51)		
SOCS3	rs2280148	TT	TC	CC	0,80	0,20	T	C	0,63 (0,17-2,26)	0,47
	grupa kontrolna	149 (96,13)	6 (3,87)	0 (0)			304 (98,06)	6 (1,94)		
SOCS3	rs4969169	CC	CT	TT	0,06	0,54	C	T	1,02 (0,61-1,69)	0,92
	grupa kontrolna	127 (81,41)	25 (16,03)	4 (2,56)			279 (89,42)	33 (10,58)		

Gen	SNP	Genotyp n (%)			H-W p	Chi ² p	Allele n (%)		OR (95 % CI)	Chi ² p
SOCS3	rs4969170	GG	GA	AA	0,79	0,16	G	A	0,89 (0,64-1,24)	0,51
	grupa kontrolna	60 (38,96)	71 (46,1)	23 (14,94)			191 (62,01)	117 (37,99)		
	grupa badana	61 (37,65)	87 (53,7)	14 (8,64)			209 (64,51)	115 (35,49)		
SOCS3	rs8064821	CC	CA	AA	0,04	-	C	A	-	-
	grupa kontrolna	118 (76,13)	31 (20,00)	6 (3,87)			267 (86,13)	43 (13,87)		
	grupa badana	123 (75,46)	37 (22,7)	3 (1,84)			283 (86,81)	43 (13,19)		
STAT1	rs10173099	CC	CT	TT	0,12	0,19	C	T	0,78 (0,49-1,25)	0,31
	grupa kontrolna	76 (49,67)	69 (45,10)	8 (5,23)			221 (72,22)	85 (27,78)		
	grupa badana	43 (60,56)	23 (32,39)	5 (7,04)			109 (76,76)	33 (23,24)		
STAT1	rs10199181	AA	AT	TT	0,09	0,13	A	T	0,73 (0,48-1,10)	0,13
	grupa kontrolna	62 (40,52)	78 (50,98)	13 (8,5)			202 (66,01)	104 (33,99)		
	grupa badana	45 (53,57)	32 (38,10)	7 (8,33)			122 (72,62)	46 (27,38)		
STAT1	rs12468579	AA	AG	GG	0,65	0,85	A	G	0,97 (0,70-1,34)	0,86
	grupa kontrolna	63 (40,91)	73 (47,40)	18 (11,69)			199 (64,61)	109 (35,39)		
	grupa badana	72 (43,11)	74 (44,31)	21 (12,57)			218 (65,27)	116 (34,73)		
STAT1	rs12693591	CC	CA	AA	0,13	0,60	C	A	1,01 (0,61-1,68)	0,94
	grupa kontrolna	122 (78,71)	33 (21,29)	0 (0)			277 (89,35)	33 (10,65)		
	grupa badana	128 (79,01)	33 (20,37)	1 (0,62)			289 (89,20)	35 (10,80)		
STAT1	rs13010343	GG	GA	AA	0,23	0,44	G	A	0,86 (0,49-1,52)	0,61
	grupa kontrolna	130 (82,80)	27 (17,20)	0 (0)			287 (91,40)	27 (8,60)		
	grupa badana	142 (85,54)	23 (13,86)	1 (0,6)			307 (92,47)	25 (7,53)		
STAT1	rs13029247	TT	TC	CC	0,19	0,41	T	C	0,86 (0,55-1,35)	0,52
	grupa kontrolna	83 (53,55)	65 (41,94)	7 (4,52)			231 (74,52)	79 (25,48)		
	grupa badana	49 (60,49)	27 (33,33)	5 (6,17)			125 (77,16)	37 (22,84)		

Gen	SNP	Genotyp n (%)			H-W p	Chi ² p	Allele n (%)		OR (95 % CI)	Chi ² p
STAT1	rs13029532	AA	AC	CC	<0,01	-	A	C	-	-
	grupa kontrolna	139 (88,54)	0 (0)	18 (11,46)			278 (88,54)	36 (11,46)		
		grupa badana	144 (87,80)	20 (12,20)	0 (0)		308 (93,9)	20 (6,1)		
STAT1	rs1547550	CC	CG	GG	<0,01	-	C	G	-	-
	grupa kontrolna	40 (28,17)	90 (63,38)	12 (8,45)			170 (59,86)	114 (40,14)		
		grupa badana	66 (42,04)	76 (48,41)	15 (9,55)		208 (66,24)	106 (33,76)		
STAT1	rs16833177	TT	TC	CC	0,10	0,04	T	C	1,01 (0,67-1,52)	0,93
	grupa kontrolna	102 (65,38)	52 (33,33)	2 (1,28)			256 (82,05)	56 (17,95)		
		grupa badana	112 (69,14)	41 (25,31)	9 (5,56)		265 (81,79)	59 (18,21)		
STAT1	rs17749316	CC	CG	GG	0,83	0,41	C	G	1,33 (0,76-2,32)	0,30
	grupa kontrolna	117 (75,48)	35 (22,58)	3 (1,94)			269 (86,77)	41 (13,23)		
		grupa badana	46 (67,65)	21 (30,88)	1 (1,47)		113 (83,09)	23 (16,91)		
STAT1	rs2066802	AA	AG	GG	0,44	0,13	A	G	0,68 (0,27-1,66)	0,39
	grupa kontrolna	137 (88,39)	18 (11,61)	0 (0)			292 (94,19)	18 (5,81)		
		grupa badana	81 (93,10)	5 (5,75)	1 (1,15)		167 (95,98)	7 (4,02)		
STAT1	rs2066804	GG	GA	AA	0,71	0,9	G	A	1,08 (0,75-1,55)	0,67
	grupa kontrolna	89 (57,42)	58 (37,42)	8 (5,16)			236 (76,13)	74 (23,87)		
		grupa badana	91 (55,49)	63 (38,41)	10 (6,10)		245 (74,70)	83 (25,30)		
STAT1	rs2280232	AA	AC	CC	0,02	-	A	C	-	-
	grupa kontrolna	100 (64,52)	54 (34,84)	1 (0,65)			254 (81,94)	56 (18,06)		
		grupa badana	107 (64,85)	52 (31,52)	6 (3,64)		266 (80,61)	64 (19,39)		
STAT1	rs2280234	GG	GA	AA	0,25	0,59	G	A	0,91 (0,65-1,27)	0,60
	grupa kontrolna	60 (40,27)	74 (49,66)	15 (10,07)			194 (65,10)	104 (34,90)		
		grupa badana	74 (45,12)	72 (43,90)	18 (10,98)		220 (67,07)	108 (32,93)		

Gen	SNP	Genotyp n (%)			H-W p	Chi ² p	Allele n (%)		OR (95 % CI)	Chi ² p
STAT1	rs34997637	GG	GA	AA	0,08	0,17	G	A	1,00 (0,69-1,46)	0,96
	grupa kontrolna	90 (58,06)	61 (39,35)	4 (2,58)			241 (77,74)	69 (22,26)		
	grupa badana	100 (61,35)	53 (32,52)	10 (6,13)			253 (77,61)	73 (22,39)		
STAT1	rs3771300	TT	TG	GG	0,22	0,52	T	G	1,07 (0,78-1,47)	0,66
	grupa kontrolna	51 (32,90)	82 (52,90)	22 (14,19)			184 (59,35)	126 (40,65)		
	grupa badana	55 (33,74)	78 (47,85)	30 (18,40)			188 (57,67)	138 (42,33)		
STAT1	rs6718902	CC	CT	TT	0,91	0,89	C	T	1,07 (0,74-1,55)	0,70
	grupa kontrolna	89 (59,73)	52 (34,9)	8 (5,37)			230 (77,18)	68 (22,82)		
	grupa badana	97 (58,43)	58 (34,94)	11 (6,63)			252 (75,90)	80 (24,10)		
STAT1	rs867637	GG	GA	AA	0,36	0,73	G	A	1,09 (0,77-1,53)	0,60
	grupa kontrolna	74 (47,13)	71 (45,22)	12 (7,64)			219 (69,75)	95 (30,25)		
	grupa badana	72 (45,86)	69 (43,95)	16 (10,19)			213 (67,83)	101 (32,17)		
STAT3	rs1053004	AA	AG	GG	0,20	0,76	A	G	1,05 (0,75-1,46)	0,76
	grupa kontrolna	62 (40,26)	77 (50,00)	15 (9,74)			201 (65,26)	107 (34,74)		
	grupa badana	63 (40,38)	74 (47,44)	19 (12,18)			200 (64,10)	112 (35,90)		
STAT3	rs17593222	CC	CG	GG	0,32	0,61	C	G	1,12 (0,63-2,01)	0,68
	grupa kontrolna	134 (85,35)	23 (14,65)	0 (0)			291 (92,68)	23 (7,32)		
	grupa badana	139 (84,24)	25 (15,15)	1 (0,61)			303 (91,82)	27 (8,18)		
STAT3	rs3744483	TT	TC	CC	0,16	0,52	T	C	1,15 (0,68-1,95)	0,59
	grupa kontrolna	109 (70,32)	39 (25,16)	7 (4,52)			257 (82,90)	53 (17,10)		
	grupa badana	42 (64,62)	21 (32,31)	2 (3,08)			105 (80,77)	25 (19,23)		
STAT3	rs3785898	CC	CA	AA	0,16	0,65	C	A	0,90 (0,63-1,29)	0,59
	grupa kontrolna	71 (46,71)	71 (46,71)	10 (6,58)			213 (70,07)	91 (29,93)		
	grupa badana	78 (51,32)	63 (41,45)	11 (7,24)			219 (72,04)	85 (27,96)		

Gen	SNP	Genotyp n (%)			H-W p	Chi ² p	Allele n (%)		OR (95 % CI)	Chi ² p
STAT3	rs3816769	TT	TC	CC	0,02	-	T	C	-	-
	grupa kontrolna	59 (37,82)	84 (53,85)	13 (8,33)			202 (64,74)	110 (35,26)		
	grupa badana	67 (40,36)	75 (45,18)	24 (14,46)			209 (62,95)	123 (37,05)		
STAT3	rs4103200	GG	GC	CC	0,22	0,24	G	C	0,98 (0,69-1,40)	0,95
	grupa kontrolna	77 (50,00)	68 (44,16)	9 (5,84)			222 (72,08)	86 (27,92)		
	grupa badana	85 (54,14)	57 (36,31)	15 (9,55)			227 (72,29)	87 (27,71)		
STAT3	rs6503695	TT	TC	CC	0,23	0,75	T	C	1,05 (0,75-1,45)	0,76
	grupa kontrolna	66 (42,31)	76 (48,72)	14 (8,97)			208 (66,67)	104 (33,33)		
	grupa badana	71 (42,51)	77 (46,11)	19 (11,38)			219 (65,57)	115 (34,43)		
STAT3	rs744166	AA	AG	GG	0,03	-	A	G	-	-
	grupa kontrolna	51 (32,48)	88 (56,05)	18 (11,46)			190 (60,51)	124 (39,49)		
	grupa badana	53 (32,72)	76 (46,91)	33 (20,37)			182 (56,17)	142 (43,83)		
STAT3	rs9891119	AA	AC	CC	<0,01	-	A	C	-	-
	grupa kontrolna	60 (38,22)	86 (54,78)	11 (7,01)			206 (65,61)	108 (34,39)		
	grupa badana	76 (46,63)	64 (39,26)	23 (14,11)			216 (66,26)	110 (33,74)		
STAT3	rs9912773	CC	CG	GG	0,12	0,30	C	G	1,13 (0,79-1,61)	0,48
	grupa kontrolna	83 (53,90)	65 (42,21)	6 (3,90)			231 (75,00)	77 (25,00)		
	grupa badana	87 (53,05)	64 (39,02)	13 (7,93)			238 (72,56)	90 (27,44)		
TYK2	rs12720270	GG	GA	AA	0,28	0,74	G	A	0,94 (0,65-1,37)	0,77
	grupa kontrolna	89 (57,42)	60 (38,71)	6 (3,87)			238 (76,77)	72 (23,23)		
	grupa badana	100 (60,24)	58 (34,94)	8 (4,82)			258 (77,71)	74 (22,29)		
TYK2	rs12720279	GG	GA	AA	0,36	0,75	G	A	1,17 (0,73-1,86)	0,50
	grupa kontrolna	120 (76,92)	35 (22,44)	1 (0,64)			275 (88,14)	37 (11,86)		
	grupa badana	122 (73,94)	41 (24,85)	2 (1,21)			285 (86,36)	45 (13,64)		

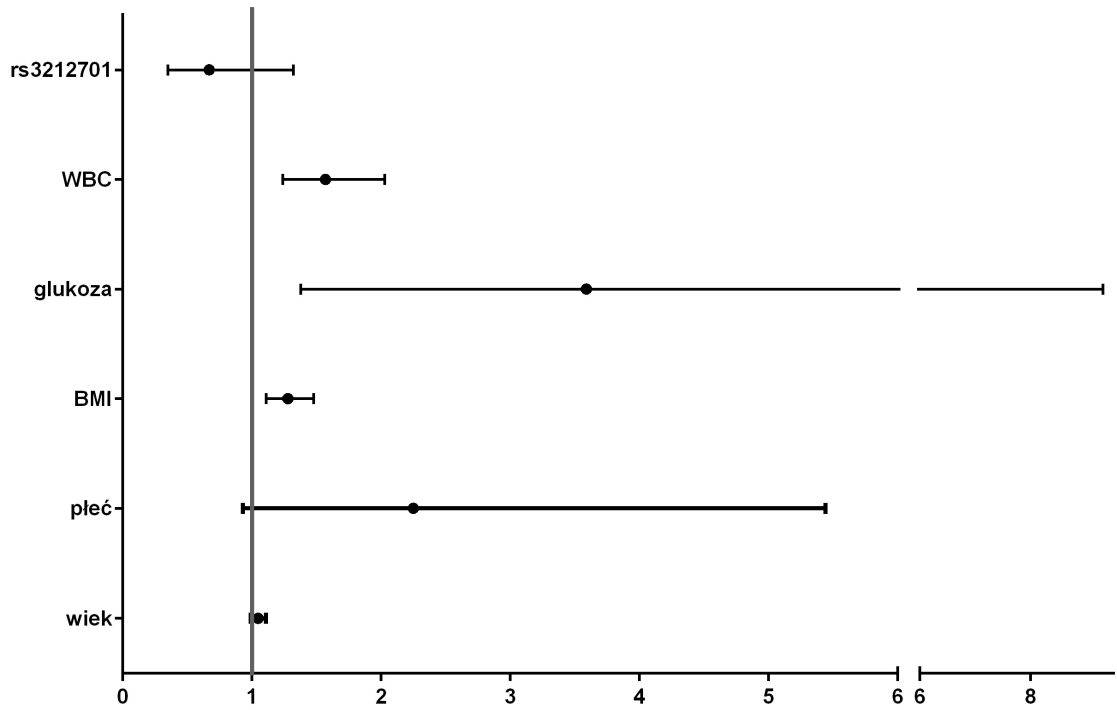
Gen	SNP	Genotyp n (%)			H-W p	Chi ² p	Allele n (%)		OR (95 % CI)	Chi ² p
TYK2	rs12720352	CC	CA	AA	0,47	0,98	C	A	1,04 (0,54-2,01)	0,89
	grupa kontrolna	139 (89,1)	16 (10,26)	1 (0,64)			294 (94,23)	18 (5,77)		
	grupa badana	147 (88,55)	18 (10,84)	1 (0,60)			312 (93,98)	20 (6,02)		
TYK2	rs12720356	AA	AC	CC	0,74	0,32	A	C	0,65 (0,36-1,18)	0,15
	grupa kontrolna	128 (82,05)	27 (17,31)	1 (0,64)			283 (90,71)	29 (9,29)		
	grupa badana	146 (87,95)	19 (11,45)	1 (0,60)			311 (93,67)	21 (6,33)		
TYK2	rs280500	AA	AG	GG	0,94	0,94	A	G	1,06 (0,68-1,65)	0,78
	grupa kontrolna	115 (73,72)	38 (24,36)	3 (1,92)			268 (85,90)	44 (14,1)		
	grupa badana	120 (72,73)	41 (24,85)	4 (2,42)			281 (85,15)	49 (14,85)		
TYK2	rs280519	GG	GA	AA	0,25	0,87	G	A	0,94 (0,68-1,28)	0,70
	grupa kontrolna	37 (24,03)	84 (54,55)	33 (21,43)			158 (51,3)	150 (48,7)		
	grupa badana	40 (24,69)	91 (56,17)	31 (19,14)			171 (52,78)	153 (47,22)		
TYK2	rs280521	GG	GA	AA	0,32	0,77	G	A	1,16 (0,73-1,83)	0,52
	grupa kontrolna	119 (76,28)	36 (23,08)	1 (0,64)			274 (87,82)	38 (12,18)		
	grupa badana	122 (73,49)	42 (25,30)	2 (1,20)			286 (86,14)	46 (13,86)		
TYK2	rs280523	GG	GA	AA	0,20	0,22	G	A	0,44 (0,17-1,12)	0,08
	grupa kontrolna	140 (91,5)	12 (7,84)	1 (0,65)			292 (95,42)	14 (4,58)		
	grupa badana	159 (95,78)	7 (4,22)	0 (0)			325 (97,89)	7 (2,11)		
TYK2	rs6511695	CC	CT	TT	0,50	0,72	C	T	0,88 (0,42-1,81)	0,73
	grupa kontrolna	140 (89,74)	16 (10,26)	0 (0)			296 (94,87)	16 (5,13)		
	grupa badana	150 (90,91)	15 (9,09)	0 (0)			315 (95,45)	15 (4,55)		

Tabela 14. Analiza różnic częstości występowania SNP względem równania Hardy-Weinberga i pomiędzy badanymi grupami dla genotypów i alleli. H-W - równanie Hardy-Weinberga, OR - iloraz szans, CI - przedział ufności.

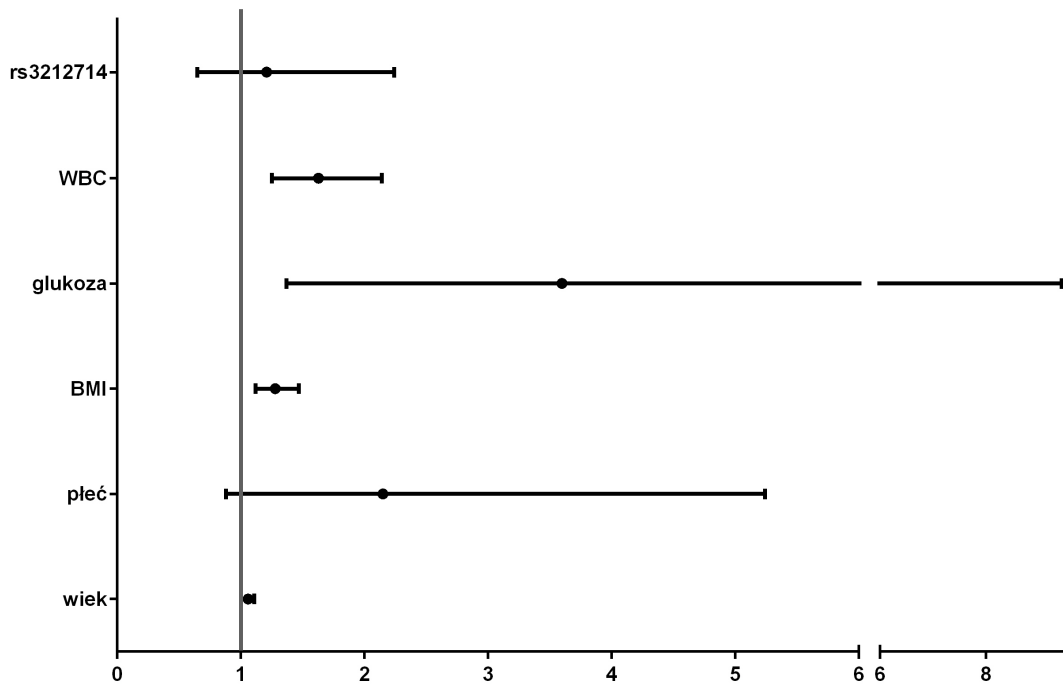
Jak przedstawiono w tabelach 8 i 9 badane grupy istotnie różniły się między innymi pod względem wieku, płci, BMI, stężenia glukozy, kwasu moczowego oraz liczby WBC w surowicy. W związku z udowodnionym wpływem tych czynników na wzrost ciśnienia tętniczego, chcąc wykazać addytywny wpływ badanych polimorfizmów na występowanie nadciśnienia tętniczego przeprowadzona została analiza regresji logistycznej. Do modelu regresji w celu wykluczenia, bądź potwierdzenia związku innych parametrów z nadciśnieniem tętniczym, którymi grupy różniły się istotnie, włączono również palenie papierosów, stężenie cholesterolu i trójglicerydów, pomimo ich dyskusyjnego wpływ na rozpoznanie tego schorzenia (tabela 15). Po wykluczeniu nieistotnych czynników do modelu regresji włączano SNP, których obecność była istotnie różna w ocenianych grupach. W analizie genotypów istotny związek z rozpoznaniem nadciśnienia tętniczego niezależnie od płci, wieku, BMI, stężenia glukozy i liczby WBC w surowicy wykazywał SNP genu *JAK3* rs3212760 [OR 2,24 (95 % CI 1,20-4,20) p=0,01]. Obecność heterozygoty zwiększa prawdopodobieństwo rozpoznania nadciśnienia tętniczego 2,24 razy, a homozygoty allelu rzadkiego o 4,48 razy (ryc. 12). W analizie alleli niezależnie od płci, wieku, BMI, stężenia glukozy i liczby WBC w surowicy obserwowano istotny wpływ na rozpoznanie nadciśnienia tętniczego alleli minor SNP rs3212760 [OR 9,80 (95 % CI 1,89-50,62) p=0,006]. Obecność allelu minor SNP rs3212760 zwiększała o 9,8 razy prawdopodobieństwo rozpoznania nadciśnienia tętniczego (ryc. 16). Szczegółowe wyniki analizy regresji logistycznej pozostałych SNP przedstawiono na rycinach 10-17.

Oceniane zmienne	OR	95 % CI	p
Płeć	2,94	0,86-10,06	0,08
Wiek	1,09	1,02-1,16	0,01
BMI	1,28	1,09-1,51	0,003
Palenie papierosów	0,51	0,14-1,76	0,28
TGL	1,30	0,59-2,86	0,51
TC	1,32	0,81-2,15	0,27
Glukoza	5,44	1,71-17,31	0,004
Kwas moczowy	0,75	0,43-1,31	0,31

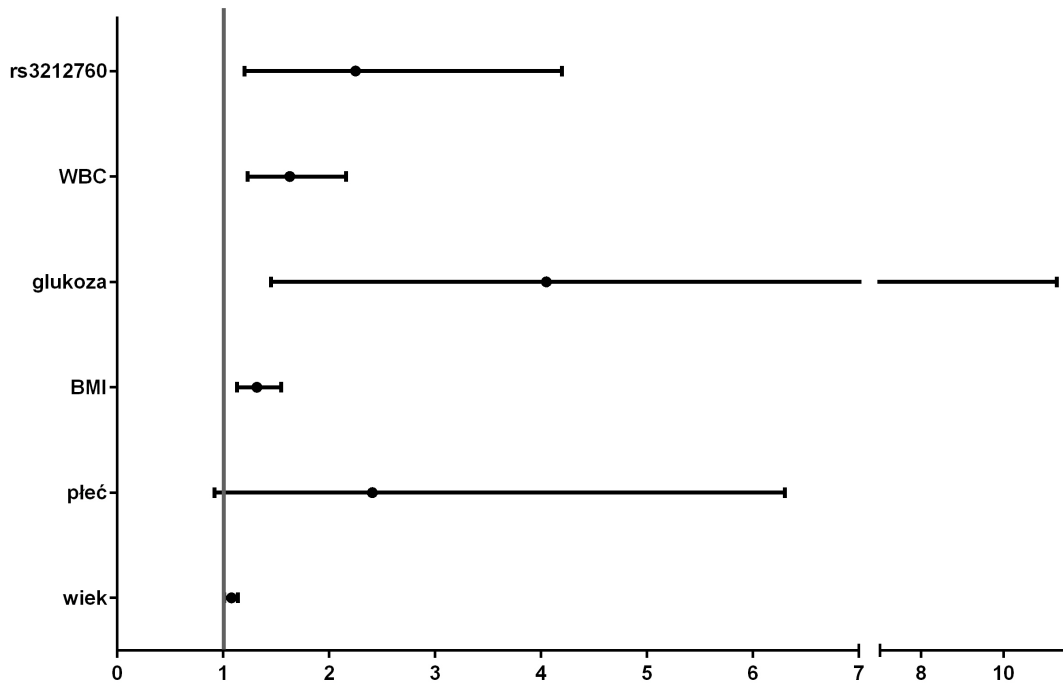
Tabela 15. Analiza regresji logistycznej dla parametrów istotnie różnych w badanych grupach. BMI - wskaźnik masy ciała, TC - całkowity cholesterol, TGL - trójglicerydy, OR - iloraz szans, CI - przedział ufności.



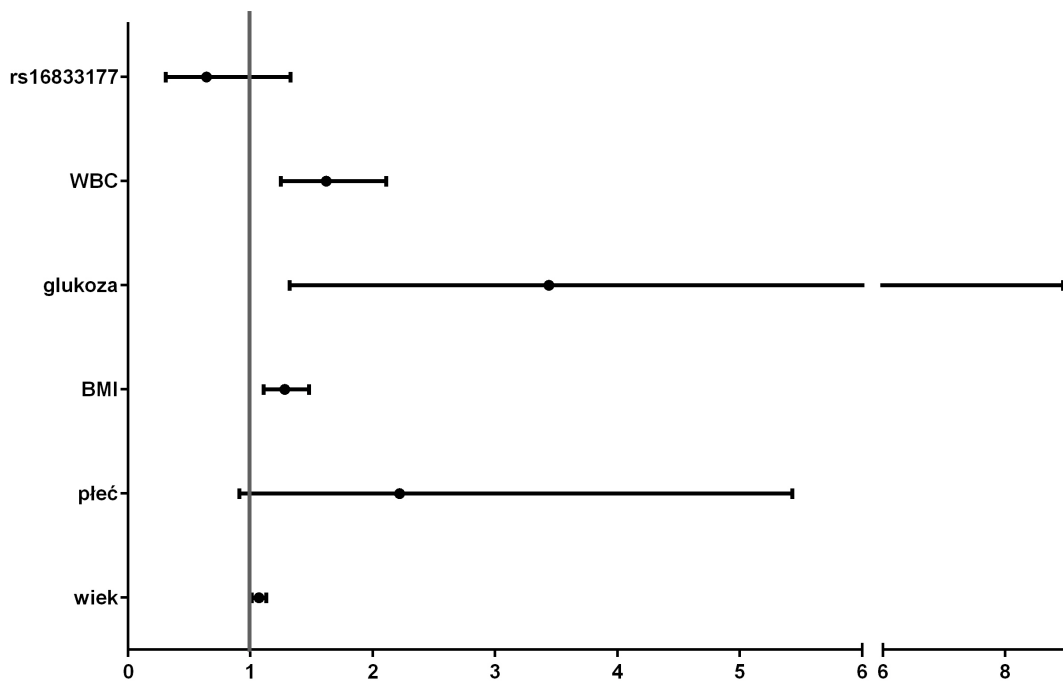
Rycina 10. Związek genotypu SNP rs3212701 genu *JAK3* z nadciśnieniem tętniczym skorygowany względem wieku, płci, BMI, stężenia glukozy i liczby WBC w surowicy.



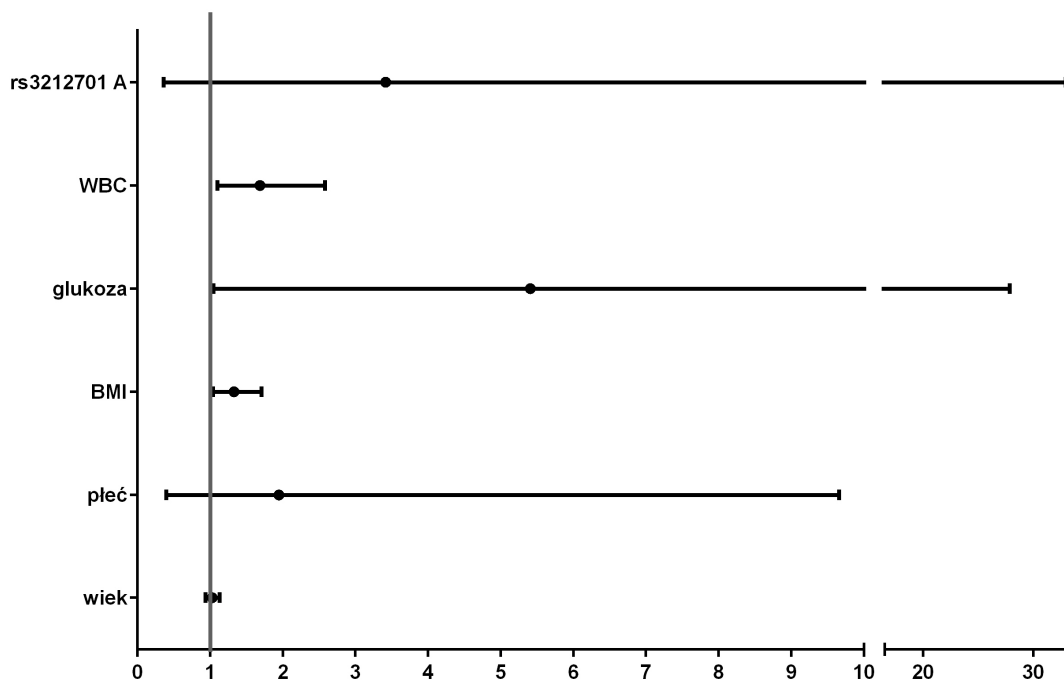
Rycina 11. Związek genotypu SNP rs3212714 genu *JAK3* z nadciśnieniem tętniczym skorygowany względem wieku, płci, BMI, stężenia glukozy i liczby WBC w surowicy.



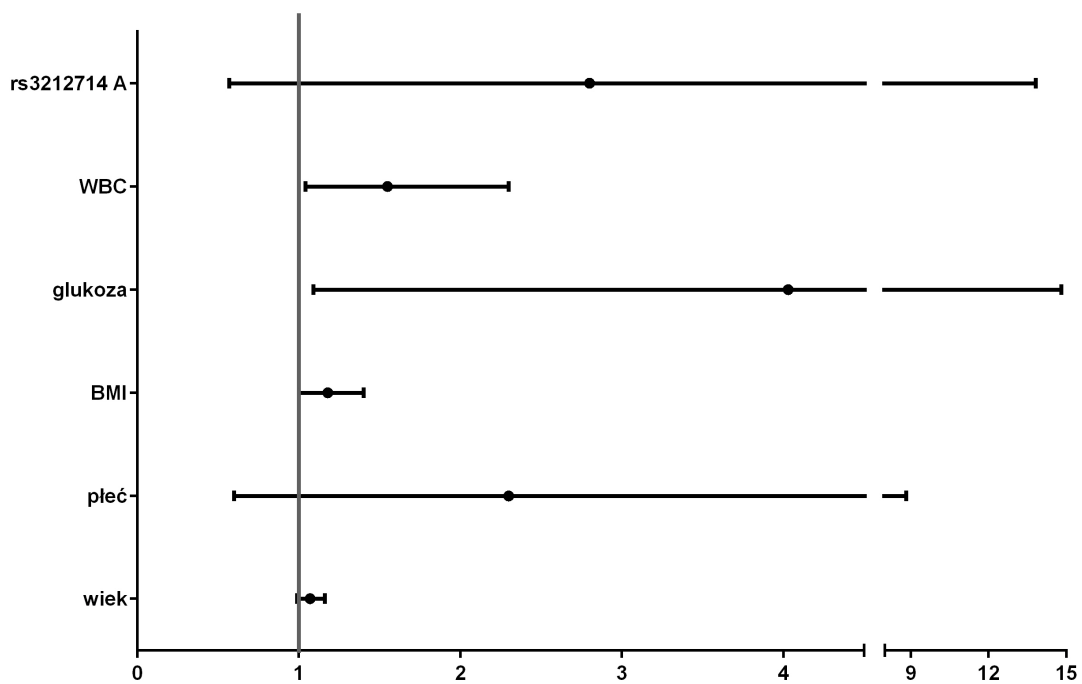
Rycina 12. Związek genotypu SNP rs3212760 genu *JAK3* z nadciśnieniem tętniczym skorygowany względem wieku, płci, BMI, stężenia glukozy i liczby WBC w surowicy.



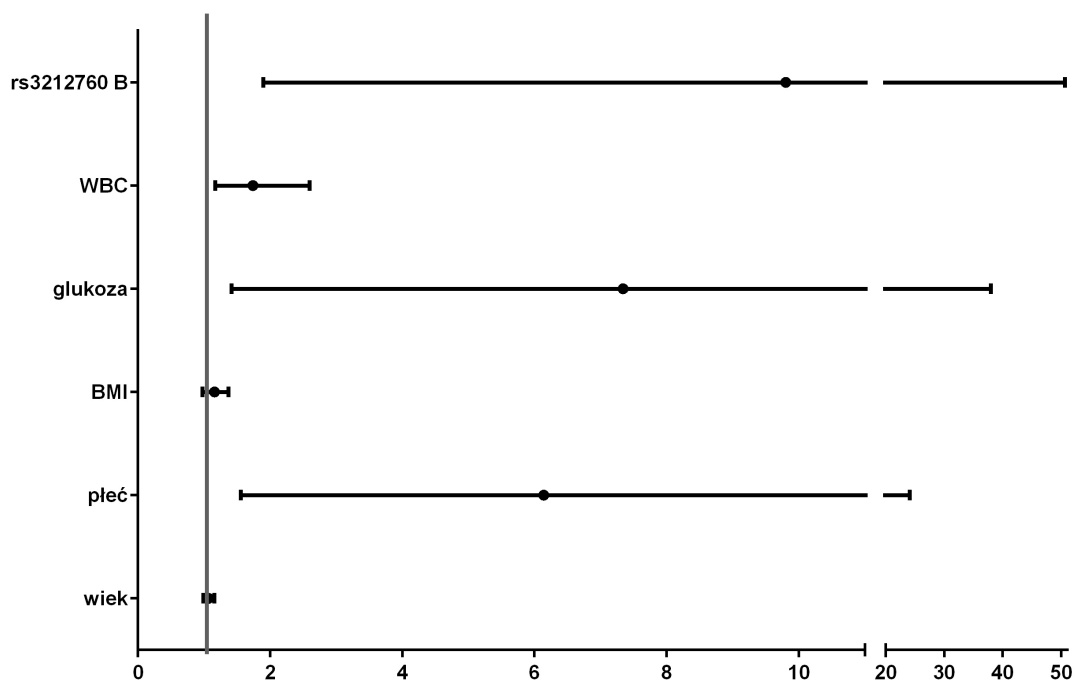
Rycina 13. Związek genotypu SNP rs16833177 genu *STAT1* z nadciśnieniem tętniczym skorygowany względem wieku, płci, BMI, stężenia glukozy i liczby WBC w surowicy.



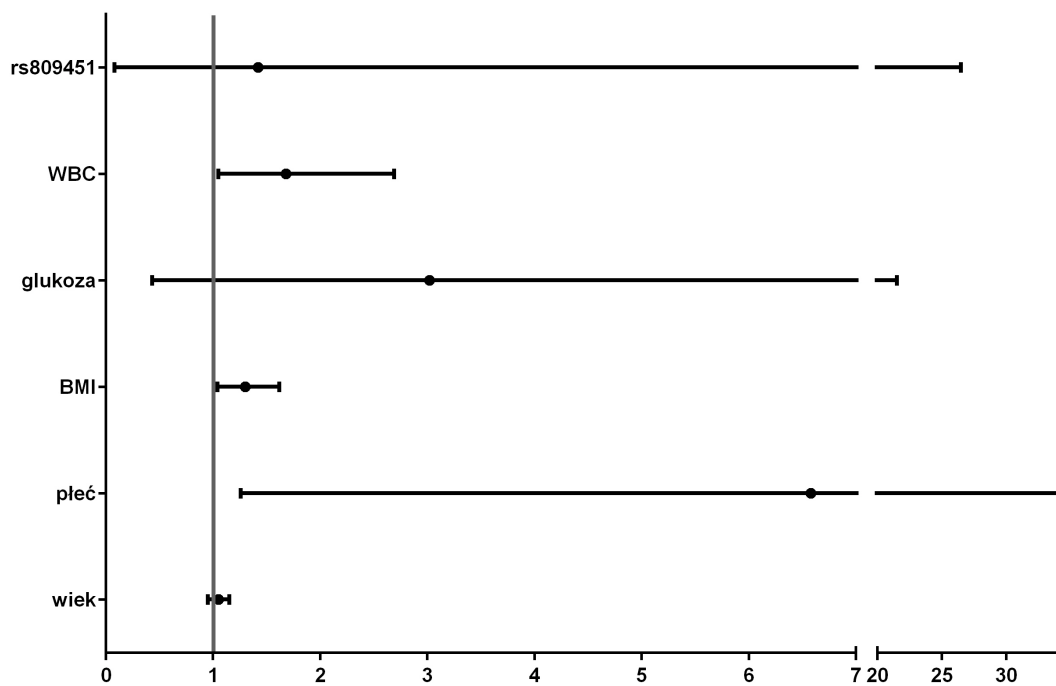
Rycina 14. Związek allelu minor SNP rs3212701 genu *JAK3* z nadciśnieniem tętniczym skorygowany względem wieku, płci, BMI, stężenia glukozy i liczby WBC w surowicy.



Rycina 15. Związek allelu minor SNP rs3212714 genu *JAK3* z nadciśnieniem tętniczym skorygowany względem wieku, płci, BMI, stężenia glukozy i liczby WBC w surowicy.



Rycina 16. Związek allelu minor SNP rs3212760 genu *JAK3* z nadciśnieniem tętniczym skorygowany względem wieku, płci, BMI, stężenia glukozy i liczby WBC w surowicy.



Rycina 17 Związek allelu minor SNP rs809451 genu *CISH* z nadciśnieniem tętniczym skorygowany względem wieku, płci, BMI, stężenia glukozy i liczby WBC w surowicy.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Pomimo wielu badań, nadal nie są jasne przyczyny pierwotnego nadciśnienia tętniczego. Jak pokazują dotychczasowe analizy znaczna część przyczyn tego schorzenia jest zależna od czynników genetycznych, jednak dokładne ich określenie napotyka wiele trudności. Na ciśnienie tętnicze wpływa znaczna liczba czynników, a mechanizm jego kontroli jest niezwykle złożony. Jak dotąd rozpoznano tylko kilka jednogenowych przyczyn wzrostu ciśnienia tętniczego, upoważniającego do rozpoznania nadciśnienia tętniczego. W pozostałych przypadkach choroba nadciśnieniowa jest najprawdopodobniej zależna od wielu loci, związanych z określoną populacją, które mogą na siebie wzajemnie wpływać. Dodatkowo analizę utrudnia fakt liniowego wzrostu ciśnienia tętniczego doprowadzającego do rozpoznania choroby. W związku z tym w badaniach asocjacyjnych ukierunkowanych na poszukiwanie genetycznych przyczyn nadciśnienia tętniczego, nie tylko zwraca się uwagę na występowanie samej choroby, ale również na odpowiednią różnicę ciśnienia tętniczego w analizowanych grupach [62]. W badaniu własnym różnica BP pomiędzy badanymi grupami była znaczna i znamienna statystycznie. SBP i DBP w grupie kontrolnej, było znacznie niższe, a w grupie badanej znacznie wyższe, niż kryteria rozpoznania nadciśnienia tętniczego dla osób bez chorób współistniejących, za które uznaje się wartości wyższe, bądź równe 140/90 mm Hg.

Wraz z wiekiem zwiększa się rola czynników środowiskowych wpływających na nadciśnienie tętnicze. Dowodzą tego obserwacje dokonane wśród ludności wiejskiej krajów rozwijających się, które nie wykazywały wzrostu BP zależnego od wieku opisywanego w społecznościach krajów wysokouprzemysłowionych. Podejrzuje się, że za taki stan rzeczy odpowiadać może styl życia, dieta, palenie tytoniu, spożycie alkoholu, stres czy masa ciała [117]. W badaniu własnym chcąc wyeliminować oddziaływanie jak największej liczby czynników środowiskowych wpływających na wzrost ciśnienia tętniczego rekrutowano ochotników w wieku poniżej 50. roku życia, a średni wiek uczestników badania wynosił $30,46 \pm 9,00$ lat. Niestety grupy istotnie różniły się wiekiem. Analiza regresji logistycznej w wymiarze wielowymiarowym potwierdziła istotny wpływ wieku na występowanie nadciśnienia tętniczego w badanych grupach. Zapewne fakt ten osłabia istotność uzyskanych wyników, jednak należy pamiętać, że w dużych badaniach epidemiologicznych wzrost SBP pomiędzy

populacją 25- i 35-latków wynosił zaledwie kilka mm Hg [118], co nieznacznie niweluje istotną różnicę SBP i DBP pomiędzy analizowanymi grupami. W związku z planowaną kontynuacją badania analizowane grupy zostaną znacznie powiększone, co przy odpowiednim doborze ochotników pozwoli zredukować obserwowane, istotne różnice pomiędzy grupami pod względem czynników wpływających na ciśnienie tętnicze.

Badania populacyjne pokazują różnice w profilu ciśnienia tętniczego zależne od płci. W młodości mężczyźni mają wyższe ciśnienie tętnicze, jednak wraz z wiekiem wzrost BP u kobiet jest silniejszy i wartości SBP zrównują się w 7 dekadzie życia [119]. Mężczyźni w wieku 25-35 lat mają SBP średnio wyższe od rówieśniczek o ok. 10 mm Hg, a DBP o ok. 5 mm Hg. Analizowane grupy istotnie różniły się płcią, w grupie badanej było mniej kobiet niż mężczyzn, co mogło uwypuklić różnicę w wartościach ciśnienia tętniczego pomiędzy grupami. Jednak wieloczynnikowa analiza regresji logistycznej nie potwierdziła istotnego związku tego czynnika z występowaniem nadciśnienia tętniczego w badanej grupie.

Kolejnym istotnym parametrem mającym związek z ciśnieniem tętniczym jest masa ciała, którą przedstawiono w analizowanych grupach jako składową BMI. Wyniki badań potwierdzają związek masy ciała z wartością ciśnienia tętniczego. W jednym z największych badań interwencyjnych redukcja masy ciała średnio o 3,9 kg wiązała się z obniżeniem SBP średnio o 2,9 mm Hg a DBP o 2,3 mm Hg [120]. W grupie badanej BMI było znamienne wyższe niż w grupie kontrolnej, a wartość mediany mieściła się w granicach nadwagi. Wieloczynnikowa analiza regresji logistycznej wykazała istotny związek tego czynnika z występowaniem nadciśnienia tętniczego w badanych grupach.

Palenie papierosów jest uznanym czynnikiem rozwoju miażdżycy i wzrostu ryzyka chorób sercowo-naczyniowych. W badaniach oceniających 24-godzinny profil ciśnienia tętniczego wykazano przejściowy wzrost BP po wypalonym papierosie [121]. Jednak doniesienia na temat bezpośredniego wpływu palenia tytoniu na wzrost ciśnienia tętniczego są sprzeczne. W badaniu własnym istotnie częściej paliły osoby z grupy badanej, co pośrednio może być związane z większą liczbą mężczyzn w tej grupie, którzy według wyników badań populacyjnych palą papierosy częściej od kobiet [122]. Jednak analiza regresji logistycznej nie potwierdziła istotności związku tego czynnika z występowaniem nadciśnienia tętniczego.

W dostępnej literaturze brak jest dowodów na bezpośredni wpływ stężenia cholesterolu i trójglicerydów na ciśnienie tętnicze. Jednak wysokie stężenie cholesterolu, a szczególnie jego frakcji LDL przy niskim stężeniu frakcji HDL, utrzymujące się przez wiele lat, jest silnym czynnikiem aterogennym, a miażdżyca sprzyja wzrostowi ciśnienia tętniczego i tym samym rozwojowi choroby nadciśnieniowej [90]. Jednak rozwój miażdżycy następuje wolno, a jej wpływ na ryzyko sercowo-naczyniowe wzrasta z wiekiem. W badaniu Framingham wykazano korelację stężenia cholesterolu i BP, jednak autorzy badania sugerują, że to osoby z nadciśnieniem tętniczym miały tendencje do wyższych wartości stężenia cholesterolu, a nie bezpośrednio cholesterol zwiększał wartość BP [123]. Uczestnicy badania własnego to głównie osoby młode, co znacznie osłabia wpływ choroby miażdżycowej na rozwój nadciśnienia tętniczego. Oznaczenie profilu lipidowego wykonano jednokrotnie w momencie włączania ochotników do badania, więc uzyskane wyniki nie odzwierciedlają wieloletniej kontroli stężeń tych parametrów w surowicy badanych osób. Ostatecznie analiza regresji logistycznej nie potwierdziła związku stężenia cholesterolu i trójglicerydów w surowicy z rozpoznaniem nadciśnienia tętniczego w analizowanych grupach.

Uznanyimi czynnikami wpływającymi na wzrost BP są insulinooporność oraz związane z nią hiperinsulinemia i podwyższone stężenie glukozy. Insulina ma działanie naczyniorozkurczowe związane z uwalnianiem tlenu azotu przez komórki śródbłonka, ale jednocześnie wpływa na wzrost reabsorpcji sodu w nerkach i aktywuje układ współczulny. Ze względu na upośledzenie funkcji śródbłonka u osób z nadciśnieniem tętniczym przewagę uzyskują mechanizmy hipertensyjne [124-125]. W przeprowadzonym badaniu, chcąc zminimalizować wpływ hiperinsulinemii na BP, wśród kryteriów wyłączenia znalazło się rozpoznanie cukrzycy. W związku z tym, średnia glikemia osób z nadciśnieniem mieściła się w granicach normy. Pomimo tego, wykazano istotną różnicę w stężeniu glukozy w surowicy między badanymi grupami, wyższe wartości odnotowano w grupie badanej. Analiza regresji logistycznej wykazała, że czynnik ten miał istotny związek z rozpoznaniem nadciśnienia tętniczego.

Analizując inne czynniki, które mogą wpływać na BP, nie można nie wspomnieć o roli kwasu moczowego. Związek kwasu moczowego z nadciśnieniem tętniczym jest złożony. Istnieją doniesienia o zależności pomiędzy stężeniem kwasu moczowego,

a rozwojem nadciśnienia tętniczego [126]. Wśród mechanizmów odpowiedzialnych za powstanie tej zależności wymienia się uszkodzenie nerek w przebiegu stanu zapalnego wywołanego hyperurykemią [127], wzrost aktywacji układu RAA i upośledzenie syntezy tlenu azotu. Jednak istnieją również doniesienia na temat wpływu choroby nadciśnieniowej na wzrost stężenia kwasu moczowego. W nadciśnieniu tętniczym umiarkowanym i łagodnym wykazano zmniejszone wydalanie kwasu moczowego [128], a w ciężkim przypuszcza się, że współistnieje również wzrost jego produkcji [129]. Wśród mechanizmów takiego stanu rzeczy wymienia się między innymi wzrost oporu naczyniowego, który redukuje przepływ nerkowy, czego konsekwencją jest upośledzenie sekrecji kanalikowej kwasu moczowego. Innym czynnikiem zwiększającym stężenie kwasu moczowego jest hiperinsulinemia [130]. W badaniu własnym średnie stężenie kwasu moczowego analizowanych grup mieściło się w granicach normy, jednak w grupie badanej było istotnie wyższe w porównaniu z grupą kontrolną. Jedną z przyczyn tej różnicy może być większa liczba kobiet w grupie kontrolnej, u których stężenie kwasu moczowego jest niższe niż u mężczyzn. Inną, jak dowodzą przytoczone dane literaturowe, nadciśnienie tętnicze. Jednak analiza regresji logistycznej nie potwierdziła istotnego związku nadciśnienia tętniczego ze stężeniem kwasu moczowego w badanej grupie.

Gillum i wsp. analizując wyniki obserwacji 6456 osób niechorujących na nadciśnienie tętnicze wykazali związek podwyższonych wartości WBC ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na to schorzenie. Osoby z liczbą leukocytów >8600 na mm^3 miały 50% większe ryzyko zachorowania na nadciśnienie tętnicze w przeciągu 10 lat niż osoby z liczbą leukocytów <6200 w mm^3 . Ryzyko to było niezależne od innych czynników [87]. Wyniki tego badania jednoznacznie dowodzą związku liczby WBC z zachorowaniem na nadciśnienie tętnicze. W celu uniknięcia wpływu ostrego stanu zapalnego na wyniki parametrów reakcji zapalnej w badaniu własnym wykluczano osoby z ostrym stanem zapalnym definiowanym na podstawie stężenia CRP > 10 mg/l. W analizowanych grupach średnia liczba WBC była istotnie wyższa u hipertoniców niż u zdrowych, choć mieściła się w normie i była znacznie niższa od progu zwiększającego ryzyko zachorowania na nadciśnienie tętnicze przyjętego w badaniu Gilluma. Jednak analiza regresji logistycznej wykazała związek WBC z rozpoznaniem nadciśnienia tętniczego w analizowanych grupach.

Analiza regresji logistycznej w wymiarze wielowymiarowym potwierdziła istotny związek wieku, BMI, stężenia glukozy i WBC w surowicy z występowaniem nadciśnienia tętniczego w badanej grupie, co zapewne utrudnia dowiedzenie istotności czynników genetycznych w rozpoznaniu tego schorzenia. Uzyskanie wystarczająco licznych, jednorodnych grup pod względem wielu parametrów, które mogą wpływać na wzrost ciśnienia tętniczego, bądź rozpoznanie choroby nadciśnieniowej, jest bardzo trudne i mało realne. W związku z tym jedyną możliwością zobiektywizowania uzyskanych wyników było użycie odpowiednich narzędzi statystycznych pozwalających na wykazanie zależności badanych czynników pomimo istotnego wpływu innych parametrów. Niezależnie od nich wykazano związek SNP rs 3212760 genu JAK3 z rozpoznaniem nadciśnienia tętniczego zarówno dla jak i alleli.

W dostępnych danych literaturowych brak jest jednoznacznych badań na temat związku sekwencji sygnałowej JaK/STAT z nadciśnieniem tętniczym. Choć wiadomo, że za pomocą tego szlaku może działać angiotensyna II [105-106]. Niepodważalny jest udział ścieżki JaK/STAT w regulacji procesu zapalnego [108-110], którego związek z rozwojem nadciśnienia tętniczego jest coraz częściej dostrzegany przez naukowców [95-100]. Jednak poszczególne składowe sekwencji sygnałowej JaK/STAT mogą w różny sposób wpływać na procesy biologiczne, dlatego ich analiza musi odbywać się na poziomie poszczególnych członków rodzin kinaz JAK, białek STAT i SOCS.

Wśród kinaz JAK w badaniu własnym analizowano zmienność genetyczną kinazy JAK3 i TYK2. W dotychczas opublikowanych badaniach wykazano, istotną rolę kinazy JAK3 w limfopoezie, szczególnie limfocytów T [131], a jej uszkodzenie skutkuje ciężkim niedoborem odporności. W modelach zwierzęcych i komórkowych blokada JAK3 ogranicza rozwój stanu zapalnego [132]. Wykazano, że obecność JAK3 w jelitach ma istotny wpływ na regenerację śluzówki przez IL-2 [133]. Zaobserwowano również udział JAK3 w różnicowaniu adipocytów [134]. W badaniach dotyczących schorzeń u ludzi wykazano związek zmienności w genie JAK3 z ostrą białaczką limfoblastyczną z limfocytów-T oraz z chłoniakiem [135-137]. Wykazano wpływ aktywacji JAK3/STAT3 na rozwój raka jelita grubego [138-139]. Polimorfizmy genu JAK3 dializowanych osób były związane z nowymi incydentami sercowo-naczyniowymi [140]. Z kolei u pacjentek z rakiem jajnika ekspresja genu JAK3 była zmniejszona w porównaniu do osób zdrowych [141], a defekt w ekspresji genów JAK3/STAT5/6 sprzyjał rozwojowi raka

nerki [142]. Liczne dowody na związek JAK3 z chorobami rozrostowymi sugeruje, że wpływ na funkcję JAK3 może być źródłem nowych leków immunosupresyjnych w leczeniu nowotworów lub transplantologii [143-144]. W badaniu własnym obserwowano istotny, niezależny od płci, wieku, BMI, stężenia glukozy i liczby WBC w surowicy związek występowania SNP genu JAK3 rs3212760 z nadciśnieniem tętniczym. SNP rs3212760 zlokalizowany jest w intronie 13 genu JAK3, na ramieniu krótkim chromosomu 19. W jedynym badaniu dotyczącym oceny SNP genu JAK3 rs3212760 nie wykazano istotnego związku polimorfizmu ze zdarzeniami sercowo-naczyniowymi u pacjentów dializowanych [140]. SNP rs3212714 znajduje się w intronie 2, zaś rs3212701 w intronie 1 genu JAK3. Niestety w dostępnej literaturze brak jest badań dotyczących związku polimorfizmów genu JAK3 z nadciśnieniem tętniczym.

Kinaza TYK2 bierze udział w przekazywaniu sygnałów wpływając na rozwój linii limfocytów Th1 i Th17 [145-146]. Wykazano związek TYK 2 z rozwojem otyłości i miażdżycy [147-148]. Sugeruje się jej wpływ, wraz z innymi kinazami, na rozwój ostrego zapalenia trzustki [149]. Wykazano liczne związki TYK2 z chorobami o podłożu zapalnym i autoimmunologicznym [150-151], m.in. ze stwardnieniem rozsianym [152-154], chorobą Leśniowskiego-Crohna [155], zapaleniem stawów [156] czy pierwotną marskością żółciową wątroby [157]. Istnieją pojedyncze doniesienia na temat roli TYK2 w chorobie Alzheimera [158]. Postulowany jest również związek TYK2 z rakiem odbytnicy, piersi i prostaty [159-162]. W populacji europejskiej wykazano wpływ polimorfizmu TYK2 na rozwój toczenia układowego [163-165], jednak nie potwierdzono tej obserwacji w populacji chińskiej [166]. Badacze sugerują, że mutacje w obrębie genu TYK2 predysponują do zakażeń oportunistycznych [145-146] oraz niedoboru odporności o charakterze hipergammaglobulinemii E [167]. W niedawno opublikowanym badaniu zaobserwowano związek polimorfizmu TYK2 z bezpłodnością związaną z endometriozą w populacji brazylijskiej [168]. Zahamowanie kinazy TYK2 może mieć istotne znaczenie w leczeniu wielu chorób o podłożu zapalnym m.in. stwardnienia rozsianego [169]. W badaniu własnym nie wykazano istotnego związku badanych 9 SNP genu TYK2 z nadciśnieniem tętniczym.

Kolejnym elementem szlaku JaK/STAT są białka STAT, które ulegają fosforylacji poprzez kinazy JAK, a następnie łączą się w homo- lub heterodimer i penetrują do jądra

komórki, gdzie przyłączają się do sekwencji promotorowych wpływając na aktywację transkrypcji. Istnieją doniesienia na temat roli czynników STAT w rozwoju wielu nowotworów: glejaka mózgu [170], raka piersi [171], szpiczaka, raka pęcherzyka żółciowego, prostaty, nerki, jajnika, trzustki, czerniaka oraz raków płaskonabłonkowych głowy i szyi [172]. Wykazano udział STAT3 w różnicowaniu limfocytów T [173] oraz w patogenezie ostrej białaczki i chłoniaków [174-176]. Z kolei w przypadku raka przełyku wykazano ochronny wpływ aktywacji STAT1 [177] oraz związek aktywacji STAT3 z poprawą prognozy u pacjentów z rakiem nosogardzieli [178]. W przypadku chorób o podłożu zapalnym zaobserwowano rolę STAT1 i STAT3 w zapaleniu stawów, oraz w zapaleniu wątroby wykazując ochronny wpływ tego drugiego czynnika w przypadku obu chorób [179-181]. Zaobserwowano związek STAT3 z przerostem mięśnia sercowego i rozwojem tętniaków aorty brzusznej. Hamowanie białka STAT3 skutkuje zmniejszoną syntezą kolagenu i regresją przerostu mięśnia sercowego [182-183]. Istnieją również doniesienia na temat działania prozapalnego STAT1, sprzyjającego rozwojowi miażdżycy jak i przeciwzapalnego STAT3 hamującego jej rozwój [89]. Wykazano ponadto związek STAT ze ścieżką sygnałową TSH [184] oraz udział STAT 1 i STAT 3 w patogenezie nefropatii cukrzycowej [185]. W przeprowadzonym badaniu własnym nie wykazano związku 17 polimorfizmów genu STAT1 i 10 SNP genu STAT3 z nadciśnieniem tętniczym. SNP rs16833177 występował istotnie częściej jako homozygota w grupie pacjentów z nadciśnieniem tętniczym. Polimorfizm rs16833177 znajduje się w regionie promotora genu STAT1 na ramieniu długim chromosomu 2. W dostępnych badaniach oceniano jego związek z toczniem układowym i reumatoidalnym zapaleniem stawów nie wykazując istotnych zależności pomiędzy polimorfizmem i występowaniem tych schorzeń.

Białka regulatorowe SOCS i białko CIS mają za zadanie kontrolować funkcję czynników STAT [186-187]. Białka SOCS przyłączają się do kinazy JAK lub bezpośrednio do miejsc aktywowanych receptorów kierując je na szlak degradacji poprzez ubikwitynizację. Zaobserwowano związek białek SOCS z rakiem piersi, jajnika [188-189], chłoniakiem Hodgkina [190], guzami płuc, wątroby i rakami płaskonabłonkowymi głowy i szyi [191-193]. Białka SOCS1 i SOCS3 są kluczowymi czynnikami biorącymi udział w reakcji zapalnej [194], hamują reakcje immunologiczne wywołane przez np. IL-6 [195-196]. Nieprawidłowa funkcja SOCS1 i SOCS3 związana jest z ostrą białaczką

szpikową, szpiczakiem mnogim oraz guzami litymi [197-198]. Zwiększoną ekspresję SOCS1 zaobserwowano w płucnej postaci gruźlicy [199], a u pacjentów z alergicznym nieżytem nosa wykazano zwiększoną ekspresję SOCS1 i SOCS3 [200]. Zwiększone stężenie SOCS1 i SOCS3 zaobserwowano również u osób z reumatoidalnym zapaleniem stawów [201]. Zwiększona ekspresja SOCS3 w śluzówce jelita grubego ma związek z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego [202]. Jednak również zaobserwowano lepsze rokowanie u pacjentek z rakiem piersi, u których jest zwiększona ekspresja SOCS1, SOCS3, SOCS4 i SOCS7 [203]. Sugeruje się, że metylacja SOCS3 odgrywa istotną rolę w patogenezie glejaka wielopostaciowego [204]. Ponadto wykazano związek SOCS1 i SOCS3 z insulinoopornością [205-207] oraz miażdżycą [208]. Polimorfizmy genu CISH były oceniane w pojedynczych badaniach, dotyczących m.in. wirusowego zapalenia wątroby typu B [209]. Istnieją również doniesienia na temat związku genu CISH z toczniem rumieniowatym [210] i ostrą białaczką szpikową [211]. A poprzez związek z działaniem IL-2 sugeruje się wpływ CIS na choroby o podłożu infekcyjnym [212]. W badaniu własnym oceniono 7 SNP genu CISH, 4 polimorfizmy genu SOCS1 i 4 genu SOCS 3, w przypadku SNP rs809451 wykazano istotnie częstsze występowania polimorfizmu w grupie osób zdrowych. Częstość występowania pozostałych SNP nie różniła się istotnie pomiędzy obserwowanymi grupami. Polimorfizm rs809451 został opisany w regionie promotora genu CISH na ramieniu krótkim chromosomu 3.

Podsumowując, istnieją liczne dowody na związek genów szlaku JaK/STAT z chorobami zapalnymi i nowotworowymi. Pomimo opisanego udziału drogi JaK/STAT w przekazywaniu informacji z receptorów m. in. dla angiotensyny II czy IL-6, których wzrost stężenia towarzyszy nadciśnieniu tętniczemu brak jest bezpośrednich dowodów na udział tego szlaku w indukcji choroby nadciśnieniowej. W dużych badaniach GWAS dotyczących nadciśnienia tętniczego analizowano wybrane SNP genów szlaku JaK/STAT jednak nie wykazano ich istotnego wpływu na wzrost ciśnienia tętniczego. Przeprowadzone badanie wykazuje istotny, niezależny od płci, wieku, BMI, stężenia glukozy oraz liczby WBC w surowicy związek polimorfizmu rs3212760 genu JAK3 z nadciśnieniem tętniczym zarówno w analizie genotypów jak i alleli. Istotność tego związku wymaga wzmocnienia w dalszych badaniach, które powinny być ukierunkowane na zwiększenie liczby uczestników i poprawę doboru grup pod względem udowodnionych czynników wpływających na rozpoznanie choroby

nadciśnieniowej takich jak wiek, płeć czy BMI. Silną stroną badania jest znaczna, istotna różnica w wartościach ciśnienia tętniczego pomiędzy analizowanymi grupami i jednolita populacja obejmująca wyłącznie osoby pochodzenia polskiego. Oba te czynniki ułatwiają wnioskowanie i eliminują wpływ części niepożądanych czynników genetycznych i środowiskowych na przeprowadzoną analizę. Poza wykazaniem związku polimorfizmów genów ścieżki sygnałowej JaK/STAT z ciśnieniem tętniczym bardzo ważnym celem kolejnych badań powinna stać się obserwacja wpływu działania tego szlaku komórkowego na wartość ciśnienia tętniczego. Wykazanie takiego związku stałoby się fundamentem do dalszych analiz a przede wszystkim do zastosowania nowych leków blokujących poszczególne elementy szlaku JaK/STAT w chorobie nadciśnieniowej, tak jak obecnie ma to miejsce w modelach eksperymentalnych chorób rozrostowych. Ocena przyczyn nadciśnienia tętniczego, które jest chorobą determinowaną przez wiele czynników środowiskowych i genetycznych, mimo przeprowadzenia tysięcy badań, nadal wymaga dalszych prac. W ostatnich latach dokonano znacznego postępu w ocenie związku polimorfizmów genomu z ciśnieniem tętniczym. Bez wątplenia jednak jeszcze wiele pracy i wysiłku naukowców będzie musiało być włożone w uzupełnienie listy czynników genetycznych związanych z chorobą nadciśnieniową, wykazanie ich patofizjologicznej roli w organizmie człowieka oraz wprowadzenie odpowiednich do zmienności genetycznych metod diagnozowania i leczenia pacjentów.

WNIOSKI

1. Częstość występowania ocenianych polimorfizmów pojedynczych nukleotydów w sekwencjach kodujących genów kinazy JAK3, TYK2, czynników STAT1, STAT3 oraz białek SOCS1, SOCS3 i CISH w populacji polskiej nie różniła się istotnie z częstością obserwowaną w populacji północno- i zachodnioeuropejskiej (CEU).
2. Nie stwierdzono istotnych różnic w częstości występowania 59 z 63 ocenianych polimorfizmów pojedynczych nukleotydów w analizowanych grupach, zarówno dla genotypów jak i alleli. Częstości występowania ośmiu z tych SNP (gen CISH: rs1872184; gen JAK3: rs3212780, rs35458530, rs78955038; gen SOCS1: rs33932899, rs34595128; gen SOCS3: rs4969169; gen TYK2, rs12720270) była po raz pierwszy oceniana w populacji europejskiej.
3. Istotne różnice w częstość występowania wybranych polimorfizmów pojedynczych nukleotydów w grupie osób z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym na tle populacji zdrowej wykazano w przypadku 4 polimorfizmów w analizie genotypów (gen *JAK3*: rs3212701, rs3212714, rs3212760; gen *STAT1*: rs16833177) oraz 4 polimorfizmów w analizie alleli (gen *JAK3*: rs3212701, rs3212714, rs3212760; gen *CISH*: rs809451). Wśród ocenianych polimorfizmów pojedynczych nukleotydów SNP rs809451 genu *CISH* wykazał działanie ochronne na rozwój nadciśnienia tętniczego.
4. SNP rs3212760 genu *JAK3* wykazał istotny, niezależny od wpływu płci, wieku, BMI, stężenia glukozy i liczby WBC w surowicy związek z rozpoznaniem pierwotnego nadciśnienia tętniczego zarówno w analizie genotypu jak i alleli, zwiększając prawdopodobieństwo rozpoznania od 2,24 do 9,80 razy.

PIŚMIENICTWO

1. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, i wsp. Worldwide prevalence of hypertension: a systematic review. *J Hypertens*. 2004; 22(1): 11-19.
2. Zdrojewski T, Wyrzykowski B, Szczech R, i wsp. Epidemiology and prevention of arterial hypertension in Poland. *Blood Press Suppl*. 2005; 2: 10-16.
3. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, i wsp. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet*. 2005; 365(9455): 217-223.
4. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, i wsp. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet*. 2002; 360(9349): 1903-1913.
5. MacMahon S, Peto R, Cutler J, i wsp. Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part 1, Prolonged differences in blood pressure: prospective observational studies corrected for the regression dilution bias. *Lancet*. 1990; 335(8692): 765-774.
6. Franklin SS, Larson MG, Khan SA, i wsp. Does the relation of blood pressure to coronary heart disease risk change with aging? The Framingham Heart Study. *Circulation*. 2001; 103(9): 1245-1249.
7. Naber CK, Siffert W. Genetics of human arterial hypertension. *Minerva Med*. 2004; 95(5): 347-356.
8. Dickinson HO, Mason JM, Nicolson DJ, i wsp. Lifestyle interventions to reduce raised blood pressure: a systematic review of randomized controlled trials. *J Hypertens*. 2006; 24(2): 215-233.
9. Narkiewicz K, Maraglino G, Biasion T, i wsp. Interactive effect of cigarettes and coffee on daytime systolic blood pressure in patients with mild essential hypertension. HARVEST Study Group (Italy). Hypertension Ambulatory Recording VEnetia Study. *J Hypertens*. 1995; 13(9): 965-970.
10. Esler M. The sympathetic system and hypertension. *Am J Hypertens*. 2000; 13(6 Pt 2): 99S-105S.
11. Mehta PK, Griendling KK. Angiotensin II cell signaling: physiological and pathological effects in the cardiovascular system. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2007; 292(1): C82-97.

12. Pickering GW, Keen H, Rose G, Smith A. The nature of essential hypertension. *Lancet*. 1959; 274(7110): 1027-1030.
13. Binder A. A review of the genetics of essential hypertension. *Curr Opin Cardiol*. 2007; 22(3): 176-184.
14. Mongeau JG, Biron P, Sing CF. The influence of genetics and household environment upon the variability of normal blood pressure: the Montreal Adoption Survey. *Clin Exp Hypertens A*. 1986; 8(4-5): 653-660.
15. Harrap SB, Stebbing M, Hopper JL, i wsp. Familial patterns of covariation for cardiovascular risk factors in adults: The Victorian Family Heart Study. *Am J Epidemiol*. 2000; 152(8): 704-715.
16. Annett JL, Sing CF, Biron P, Mongeau JG. Familial aggregation of blood pressure and weight in adoptive families. I. Comparisons of blood pressure and weight statistics among families with adopted, natural, or both natural and adopted children. *Am J Epidemiol*. 1979; 110(4): 479-491.
17. Botero-Velez M, Curtis JJ, Warnock DG. Brief report: Liddle's syndrome revisited--a disorder of sodium reabsorption in the distal tubule. *N Engl J Med*. 1994; 330(3): 178-181.
18. Shimkets RA, Warnock DG, Bositis CM, i wsp. Liddle's syndrome: heritable human hypertension caused by mutations in the beta subunit of the epithelial sodium channel. *Cell*. 1994; 79(3): 407-414.
19. Furuhashi M, Kitamura K, Adachi M, i wsp. Liddle's syndrome caused by a novel mutation in the proline-rich PY motif of the epithelial sodium channel beta-subunit. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005; 90(1): 340-344.
20. Hansson JH, Nelson-Williams C, Suzuki H, i wsp. Hypertension caused by a truncated epithelial sodium channel gamma subunit: genetic heterogeneity of Liddle syndrome. *Nat Genet*. 1995; 11(1): 76-82.
21. Kamynina E, Staub O. Concerted action of ENaC, Nedd4-2, and Sgk1 in transepithelial Na(+) transport. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2002; 283(3): F377-387.
22. Lifton RP, Dluhy RG, Powers M, i wsp. A chimaeric 11 beta-hydroxylase/aldosterone synthase gene causes glucocorticoid-remediable aldosteronism and human hypertension. *Nature*. 1992; 355(6357): 262-265.

23. Wilson FH, Disse-Nicodeme S, Choate KA, i wsp. Human hypertension caused by mutations in WNK kinases. *Science*. 2001; 293(5532): 1107-1112.
24. Lalioti MD, Zhang J, Volkman HM, i wsp. Wnk4 controls blood pressure and potassium homeostasis via regulation of mass and activity of the distal convoluted tubule. *Nat Genet*. 2006; 38(10): 1124-1132.
25. Xie J, Craig L, Cobb MH, Huang CL. Role of with-no-lysine [K] kinases in the pathogenesis of Gordon's syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2006; 21(9): 1231-1236.
26. Mayan H, Vered I, Mouallem M, i wsp. Pseudohypoaldosteronism type II: marked sensitivity to thiazides, hypercalciuria, normomagnesemia, and low bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87(7): 3248-3254.
27. Mune T, Rogerson FM, Nikkila H, i wsp. Human hypertension caused by mutations in the kidney isozyme of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. *Nat Genet*. 1995; 10(4): 394-399.
28. Geller DS, Farhi A, Pinkerton N, i wsp. Activating mineralocorticoid receptor mutation in hypertension exacerbated by pregnancy. *Science*. 2000; 289(5476): 119-123.
29. Schuster H, Wienker TF, Toka HR, i wsp. Autosomal dominant hypertension and brachydactyly in a Turkish kindred resembles essential hypertension. *Hypertension*. 1996; 28(6): 1085-1092.
30. Bähring S, Rauch A, Toka O, i wsp. Autosomal-dominant hypertension with type E brachydactyly is caused by rearrangement on the short arm of chromosome 12. *Hypertension*. 2004; 43(2): 471-476.
31. Barroso I, Gurnell M, Crowley VE, i wsp. Dominant negative mutations in human PPARgamma associated with severe insulin resistance, diabetes mellitus and hypertension. *Nature*. 1999; 402(6764): 880-883.
32. Koivukoski L, Fisher SA, Kanninen T, i wsp. Meta-analysis of genome-wide scans for hypertension and blood pressure in Caucasians shows evidence of susceptibility regions on chromosomes 2 and 3. *Hum Mol Genet*. 2004; 13(19): 2325-2332.
33. Liu W, Zhao W, Chase GA. Genome scan meta-analysis for hypertension. *Am J Hypertens*. 2004; 17(12 Pt 1): 1100-1106.

34. Wu X, Kan D, Province M, i wsp. An updated meta-analysis of genome scans for hypertension and blood pressure in the NHLBI Family Blood Pressure Program (FBPP). *Am J Hypertens*. 2006; 19(1): 122-127.
35. Mancia G, Grassi G, Kjeldsen SE, editors. *Nadciśnienie tętnicze – podręcznik* European Society of Hypertension. Gdańsk: Via Medica; 2009.
36. Jeunemaitre X, Soubrier F, Kotelevtsev YV, i wsp. Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen. *Cell*. 1992; 71(1): 169-180.
37. Caulfield M, Lavender P, Farrall M, i wsp. Linkage of the angiotensinogen gene to essential hypertension. *N Engl J Med*. 1994; 330(23): 1629-1633.
38. Agerholm-Larsen B, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. ACE gene polymorphism in cardiovascular disease: meta-analyses of small and large studies in whites. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000; 20(2): 484-492.
39. Marteau JB, Zaiou M, Siest G, Visvikis-Siest S. Genetic determinants of blood pressure regulation. *J Hypertens*. 2005; 23(12): 2127-2143.
40. Bengtsson K, Melander O, Orho-Melander M, i wsp. Polymorphism in the beta(1)-adrenergic receptor gene and hypertension. *Circulation*. 2001; 104(2): 187-190.
41. Humma LM, Puckett BJ, Richardson HE, i wsp. Effects of beta1-adrenoceptor genetic polymorphisms on resting hemodynamics in patients undergoing diagnostic testing for ischemia. *Am J Cardiol*. 2001; 88(9): 1034-1037.
42. O'Shaughnessy KM, Fu B, Dickerson C, i wsp. The gain-of-function G389R variant of the beta1-adrenoceptor does not influence blood pressure or heart rate response to beta-blockade in hypertensive subjects. *Clin Sci (Lond)*. 2000; 99(3): 233-238.
43. Buscher R, Belger H, Eilmes KJ, i wsp. In-vivo studies do not support a major functional role for the Gly389Arg beta 1-adrenoceptor polymorphism in humans. *Pharmacogenetics*. 2001; 11(3): 199-205.
44. Gratze G, Fortin J, Labugger R, i wsp. beta-2 Adrenergic receptor variants affect resting blood pressure and agonist-induced vasodilation in young adult Caucasians. *Hypertension*. 1999; 33(6): 1425-1430.

45. Hoit BD, Suresh DP, Craft L, i wsp. beta2-adrenergic receptor polymorphisms at amino acid 16 differentially influence agonist-stimulated blood pressure and peripheral blood flow in normal individuals. *Am Heart J.* 2000; 139(3): 537-542.
46. Bray MS, Krushkal J, Li L, i wsp. Positional genomic analysis identifies the beta(2)-adrenergic receptor gene as a susceptibility locus for human hypertension. *Circulation.* 2000; 101(25): 2877-2882.
47. Timmermann B, Mo R, Luft FC, i wsp. Beta-2 adrenoceptor genetic variation is associated with genetic predisposition to essential hypertension: The Bergen Blood Pressure Study. *Kidney Int.* 1998; 53(6): 1455-1460.
48. Herrmann SM, Nicaud V, Tiret L, i wsp. Polymorphisms of the beta2 - adrenoceptor (ADRB2) gene and essential hypertension: the ECTIM and PEGASE studies. *J Hypertens.* 2002; 20(2): 229-235.
49. Xie HG, Stein CM, Kim RB, i wsp. Human beta2-adrenergic receptor polymorphisms: no association with essential hypertension in black or white Americans. *Clin Pharmacol Ther.* 2000; 67(6): 670-675.
50. Galletti F, Iacone R, Ragone E, i wsp. Lack of association between polymorphism in the beta2-adrenergic receptor gene, hypertension, and obesity in the Olivetti heart study. *Am J Hypertens.* 2004; 17(8): 718-720.
51. Ringel J, Kreutz R, Distler A, Sharma AM. The Trp64Arg polymorphism of the beta3-adrenergic receptor gene is associated with hypertension in men with type 2 diabetes mellitus. *Am J Hypertens.* 2000; 13(9): 1027-1031.
52. Siffert W, Roskopf D, Siffert G, i wsp. Association of a human G-protein beta3 subunit variant with hypertension. *Nat Genet.* 1998; 18(1): 45-48.
53. Bagos PG, Elefsinioti AL, Nikolopoulos GK, Hamodrakas SJ. The GNB3 C825T polymorphism and essential hypertension: a meta-analysis of 34 studies including 14,094 cases and 17,760 controls. *J Hypertens.* 2007; 25(3): 487-500.
54. Seasholtz TM, Wessel J, Rao F, i wsp. Rho kinase polymorphism influences blood pressure and systemic vascular resistance in human twins: role of heredity. *Hypertension.* 2006; 47(5): 937-947.
55. Rossi GP, Pitter G. Genetic variation in the endothelin system: do polymorphisms affect the therapeutic strategies? *Ann N Y Acad Sci.* 2006; 1069: 34-50.

56. Niu W, Qi Y. An updated meta-analysis of endothelial nitric oxide synthase gene: three well-characterized polymorphisms with hypertension. *PLoS One*. 2011; 6(9): e24266.
57. Li Y, Thijs L, Kuznetsova T, i wsp. Cardiovascular risk in relation to alpha-adducin Gly460Trp polymorphism and systolic pressure: a prospective population study. *Hypertension*. 2005; 46(3): 527-532.
58. Bianchi G, Ferrari P, Staessen JA. Adducin polymorphism: detection and impact on hypertension and related disorders. *Hypertension*. 2005; 45(3): 331-340.
59. Iwai N, Baba S, Mannami T, i wsp. Association of a sodium channel alpha subunit promoter variant with blood pressure. *J Am Soc Nephrol*. 2002; 13(1): 80-85.
60. Levy D, Larson MG, Benjamin EJ, i wsp. Framingham Heart Study 100K Project: genome-wide associations for blood pressure and arterial stiffness. *BMC Med Genet*. 2007; 8 Suppl 1: S3.
61. Consortium WTCC. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature*. 2007; 447(7145): 661-678.
62. Newton-Cheh C, Johnson T, Gateva V, i wsp. Genome-wide association study identifies eight loci associated with blood pressure. *Nat Genet*. 2009; 41(6): 666-676.
63. Levy D, Ehret GB, Rice K, i wsp. Genome-wide association study of blood pressure and hypertension. *Nat Genet*. 2009; 41(6): 677-687.
64. Ehret GB, Munroe PB, Rice KM, i wsp. Genetic variants in novel pathways influence blood pressure and cardiovascular disease risk. *Nature*. 2011; 478(7367): 103-109.
65. Johnson T, Gaunt TR, Newhouse SJ, i wsp. Blood pressure loci identified with a gene-centric array. *Am J Hum Genet*. 2011; 89(6): 688-700.
66. Salvi E, Kutalik Z, Glorioso N, i wsp. Genomewide association study using a high-density single nucleotide polymorphism array and case-control design identifies a novel essential hypertension susceptibility locus in the promoter region of endothelial NO synthase. *Hypertension*. 2012; 59(2): 248-255.

67. Cho YS, Go MJ, Kim YJ, i wsp. A large-scale genome-wide association study of Asian populations uncovers genetic factors influencing eight quantitative traits. *Nat Genet.* 2009; 41(5): 527-534.
68. Kato N, Takeuchi F, Tabara Y, i wsp. Meta-analysis of genome-wide association studies identifies common variants associated with blood pressure variation in east Asians. *Nat Genet.* 2011; 43(6): 531-538.
69. Staessen JA, Wang JG, Brand E, i wsp. Effects of three candidate genes on prevalence and incidence of hypertension in a Caucasian population. *J Hypertens.* 2001; 19(8): 1349-1358.
70. Schut AF, Sayed-Tabatabaei FA, Witteman JC, i wsp. Smoking-dependent effects of the angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism on blood pressure. *J Hypertens.* 2004; 22(2): 313-319.
71. Marques-Vidal P, Bongard V, Ruidavets JB, i wsp. Obesity and alcohol modulate the effect of apolipoprotein E polymorphism on lipids and insulin. *Obes Res.* 2003; 11(10): 1200-1206.
72. Ritz H, Więcek A, Januszewicz A, editors. *Leki hamujące aktywność układu renina-angiotensyna-aldosteron w chorobach serca, naczyń i nerek.* Kraków: Medycyna Praktyczna; 2010.
73. Peters J. Secretory and cytosolic (pro)renin in kidney, heart, and adrenal gland. *J Mol Med (Berl).* 2008; 86(6): 711-714.
74. Melnyk RA, Tam J, Boie Y, i wsp. Renin and prorenin activate pathways implicated in organ damage in human mesangial cells independent of angiotensin II production. *Am J Nephrol.* 2009; 30(3): 232-243.
75. Allen AM, Zhuo J, Mendelsohn FA. Localization of angiotensin AT1 and AT2 receptors. *J Am Soc Nephrol.* 1999; 10 Suppl 11: S23-29.
76. Guzik TJ, Hoch NE, Brown KA, i wsp. Role of the T cell in the genesis of angiotensin II induced hypertension and vascular dysfunction. *J Exp Med.* 2007; 204(10): 2449-2460.
77. Ahmad M, White R, Tan J, i wsp. Angiotensin-converting enzyme inhibitors, inhibition of brain and peripheral angiotensin-converting enzymes, and left ventricular dysfunction in rats after myocardial infarction. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2008; 51(6): 565-572.

78. Baker KM, Chernin MI, Schreiber T, i wsp. Evidence of a novel intracrine mechanism in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy. *Regul Pept.* 2004; 120(1-3): 5-13.
79. Fitzsimons JT. Angiotensin, thirst, and sodium appetite. *Physiol Rev.* 1998; 78(3): 583-686.
80. Hoch NE, Guzik TJ, Chen W, i wsp. Regulation of T-cell function by endogenously produced angiotensin II. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2009; 296(2): R208-216.
81. Gwathmey TM, Pendergrass KD, Reid SD, i wsp. Angiotensin-(1-7)-angiotensin-converting enzyme 2 attenuates reactive oxygen species formation to angiotensin II within the cell nucleus. *Hypertension.* 2010; 55(1): 166-171.
82. Chai SY, Fernando R, Peck G, i wsp. The angiotensin IV/AT4 receptor. *Cell Mol Life Sci.* 2004; 61(21): 2728-2737.
83. Bauersachs J, Fraccarollo D. Endothelial NO synthase target of aldosterone. *Hypertension.* 2006; 48(1): 27-28.
84. Mazak I, Fiebeler A, Muller DN, i wsp. Aldosterone potentiates angiotensin II-induced signaling in vascular smooth muscle cells. *Circulation.* 2004; 109(22): 2792-2800.
85. Cottone S, Mule G, Nardi E, i wsp. Relation of C-reactive protein to oxidative stress and to endothelial activation in essential hypertension. *Am J Hypertens.* 2006; 19(3): 313-318.
86. Engstrom G, Janzon L, Berglund G, i wsp. Blood pressure increase and incidence of hypertension in relation to inflammation-sensitive plasma proteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002; 22(12): 2054-2058.
87. Gillum RF, Mussolino ME. White blood cell count and hypertension incidence. The NHANES I Epidemiologic Follow-up Study. *J Clin Epidemiol.* 1994; 47(8): 911-919.
88. Crowley SD, Song YS, Lin EE, i wsp. Lymphocyte responses exacerbate angiotensin II-dependent hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2010; 298(4): R1089-1097.

89. Sikorski K, Czerwoniec A, Bujnicki JM, i wsp. STAT1 as a novel therapeutical target in pro-atherogenic signal integration of IFN γ , TLR4 and IL-6 in vascular disease. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2011; 22(4): 211-219.
90. Januszewicz A, Januszewicz W, Szczepańska-Sadowska E, Sznajderman M, editors. *Nadciśnienie Tętnicze*. Kraków: Medycyna Praktyczna; 2007.
91. Hernandez-Presa M, Bustos C, Ortego M, i wsp. Angiotensin-converting enzyme inhibition prevents arterial nuclear factor-kappa B activation, monocyte chemoattractant protein-1 expression, and macrophage infiltration in a rabbit model of early accelerated atherosclerosis. *Circulation.* 1997; 95(6): 1532-1541.
92. Li QZ, Deng Q, Li JQ, i wsp. Valsartan reduces interleukin-1 β secretion by peripheral blood mononuclear cells in patients with essential hypertension. *Clin Chim Acta.* 2005; 355(1-2): 131-136.
93. Manabe S, Okura T, Watanabe S, i wsp. Effects of angiotensin II receptor blockade with valsartan on pro-inflammatory cytokines in patients with essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2005; 46(6): 735-739.
94. Sesso HD, Buring JE, Rifai N, i wsp. C-reactive protein and the risk of developing hypertension. *JAMA.* 2003; 290(22): 2945-2951.
95. Chae CU, Lee RT, Rifai N, Ridker PM. Blood pressure and inflammation in apparently healthy men. *Hypertension.* 2001; 38(3): 399-403.
96. Dorffel Y, Latsch C, Stuhlmüller B, i wsp. Preactivated peripheral blood monocytes in patients with essential hypertension. *Hypertension.* 1999; 34(1): 113-117.
97. Wenzel P, Knorr M, Kossmann S, i wsp. Lysozyme M-positive monocytes mediate angiotensin II-induced arterial hypertension and vascular dysfunction. *Circulation.* 2011; 124(12): 1370-1381.
98. Kondo T, Takata H, Matsuki F, Takiguchi M. Cutting edge: Phenotypic characterization and differentiation of human CD8 $^{+}$ T cells producing IL-17. *J Immunol.* 2009; 182(4): 1794-1798.
99. Madhur MS, Lob HE, McCann LA, i wsp. Interleukin 17 promotes angiotensin II-induced hypertension and vascular dysfunction. *Hypertension.* 2010; 55(2): 500-507.

100. Marvar PJ, Vinh A, Thabet S, i wsp. T lymphocytes and vascular inflammation contribute to stress-dependent hypertension. *Biol Psychiatry*. 2012; 71(9): 774-782.
101. Jurewicz M, McDermott DH, Sechler JM, i wsp. Human T and natural killer cells possess a functional renin-angiotensin system: further mechanisms of angiotensin II-induced inflammation. *J Am Soc Nephrol*. 2007; 18(4): 1093-1102.
102. Marrero MB, Schieffer B, Paxton WG, i wsp. Direct stimulation of Jak/STAT pathway by the angiotensin II AT1 receptor. *Nature*. 1995; 375(6528): 247-250.
103. Levy DE, Darnell JE, Jr. Stats: transcriptional control and biological impact. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2002; 3(9): 651-662.
104. Yoshimura A, Naka T, Kubo M. SOCS proteins, cytokine signalling and immune regulation. *Nat Rev Immunol*. 2007; 7(6): 454-465.
105. Venema RC, Venema VJ, Eaton DC, Marrero MB. Angiotensin II-induced tyrosine phosphorylation of signal transducers and activators of transcription 1 is regulated by Janus-activated kinase 2 and Fyn kinases and mitogen-activated protein kinase phosphatase 1. *J Biol Chem*. 1998; 273(46): 30795-30800.
106. Ali MS, Sayeski PP, Bernstein KE. Jak2 acts as both a STAT1 kinase and as a molecular bridge linking STAT1 to the angiotensin II AT1 receptor. *J Biol Chem*. 2000; 275(20): 15586-15593.
107. Marrero MB, Schieffer B, Li B, i wsp. Role of Janus kinase/signal transducer and activator of transcription and mitogen-activated protein kinase cascades in angiotensin II- and platelet-derived growth factor-induced vascular smooth muscle cell proliferation. *J Biol Chem*. 1997; 272(39): 24684-24690.
108. Heinrich PC, Behrmann I, Haan S, i wsp. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *Biochem J*. 2003; 374(Pt 1): 1-20.
109. Lehmann U, Schmitz J, Weissenbach M, i wsp. SHP2 and SOCS3 contribute to Tyr-759-dependent attenuation of interleukin-6 signaling through gp130. *J Biol Chem*. 2003; 278(1): 661-671.
110. Schmitz J, Weissenbach M, Haan S, i wsp. SOCS3 exerts its inhibitory function on interleukin-6 signal transduction through the SHP2 recruitment site of gp130. *J Biol Chem*. 2000; 275(17): 12848-12856.

111. Chung CD, Liao J, Liu B, i wsp. Specific inhibition of Stat3 signal transduction by PIAS3. *Science*. 1997; 278(5344): 1803-1805.
112. Briscoe J, Guschin D, Rogers NC, i wsp. JAKs, STATs and signal transduction in response to the interferons and other cytokines. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 1996; 351(1336): 167-171.
113. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, i wsp. 2007 Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J Hypertens*. 2007; 25(6): 1105-1187.
114. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, i wsp. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med*. 1999; 130(6): 461-470.
115. Illumina I. GoldenGate® Genotyping with VeraCode® Technology. 2010; http://www.illumina.com/documents/products/technotes/technote_veracode_goldengate_genotyping.pdf.
116. University T. HW Calculator. <http://www.tufts.edu/~mcourt01/Documents/Court%20lab%20-%20HW%20calculator.xls>.
117. Stamler J, Rose G, Stamler R, i wsp. INTERSALT study findings. Public health and medical care implications. *Hypertension*. 1989; 14(5): 570-577.
118. O'Rourke MF, Nichols WW. Aortic diameter, aortic stiffness, and wave reflection increase with age and isolated systolic hypertension. *Hypertension*. 2005; 45(4): 652-658.
119. Staessen J, Amery A, Fagard R. Isolated systolic hypertension in the elderly. *J Hypertens*. 1990; 8(5): 393-405.
120. Whelton PK, Appel L, Charleston J, i wsp. The effects of nonpharmacologic interventions on blood pressure of persons with high normal levels. Results of the Trials of Hypertension Prevention, Phase I. *JAMA*. 1992; 267(9): 1213-1220.
121. Verdecchia P, Schillaci G, Borgioni C, i wsp. Cigarette smoking, ambulatory blood pressure and cardiac hypertrophy in essential hypertension. *J Hypertens*. 1995; 13(10): 1209-1215.

122. WHO. Prevalence of tobacco use. 2012; <http://apps.who.int/gho/data/?vid=1805>.
123. Castelli WP, Anderson K. A population at risk. Prevalence of high cholesterol levels in hypertensive patients in the Framingham Study. *Am J Med.* 1986; 80(2A): 23-32.
124. Manolio TA, Savage PJ, Burke GL, i wsp. Association of fasting insulin with blood pressure and lipids in young adults. The CARDIA study. *Arteriosclerosis.* 1990; 10(3): 430-436.
125. Bloomgarden ZT. Obesity, hypertension, and insulin resistance. *Diabetes Care.* 2002; 25(11): 2088-2097.
126. Feig DI, Kang DH, Johnson RJ. Uric acid and cardiovascular risk. *N Engl J Med.* 2008; 359(17): 1811-1821.
127. Cannon PJ, Stason WB, Demartini FE, i wsp. Hyperuricemia in primary and renal hypertension. *N Engl J Med.* 1966; 275(9): 457-464.
128. Tykarski A. Mechanizm hiperurykemii oraz ocena wpływu leków hipotensyjnych na transport kwasu moczowego i jego prekursorów w nefronie w nadciśnieniu tętniczym pierwotnym. . Praca habilitacyjna Akademia Medyczna im Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Poznań1997.
129. Tykarski A, Łopatka P, Posadzy-Mańczyńska A, Głuszek J. Mechanizm hiperurykemii w nadciśnieniu tętniczym pierwotnym ciężkim, opornym na leczenie. *Nadciśnienie tętnicze.* 2004; 8(6): 411-423.
130. Herman JB, Goldbourt U. Uric acid and diabetes: observations in a population study. *Lancet.* 1982; 2(8292): 240-243.
131. Russell SM, Tayebi N, Nakajima H, i wsp. Mutation of Jak3 in a patient with SCID: essential role of Jak3 in lymphoid development. *Science.* 1995; 270(5237): 797-800.
132. Kim BH, Kim M, Yin CH, i wsp. Inhibition of the signalling kinase JAK3 alleviates inflammation in monoarthritic rats. *Br J Pharmacol.* 2011; 164(1): 106-118.
133. Kumar N, Mishra J, Narang VS, Waters CM. Janus kinase 3 regulates interleukin 2-induced mucosal wound repair through tyrosine phosphorylation of villin. *J Biol Chem.* 2007; 282(42): 30341-30345.

134. Song HY, Kim MR, Lee MJ, i wsp. Oncostatin M decreases adiponectin expression and induces dedifferentiation of adipocytes by JAK3- and MEK-dependent pathways. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007; 39(2): 439-449.
135. Bains T, Heinrich MC, Loriaux MM, i wsp. Newly described activating JAK3 mutations in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 2012; 26(9): 2144-2146.
136. Kameda T, Shide K, Shimoda HK, i wsp. Absence of gain-of-function JAK1 and JAK3 mutations in adult T cell leukemia/lymphoma. *Int J Hematol.* 2010; 92(2): 320-325.
137. Jeong EG, Kim MS, Nam HK, i wsp. Somatic mutations of JAK1 and JAK3 in acute leukemias and solid cancers. *Clin Cancer Res.* 2008; 14(12): 3716-3721.
138. Lin Q, Lai R, Chirieac LR, i wsp. Constitutive activation of JAK3/STAT3 in colon carcinoma tumors and cell lines: inhibition of JAK3/STAT3 signaling induces apoptosis and cell cycle arrest of colon carcinoma cells. *Am J Pathol.* 2005; 167(4): 969-980.
139. Mori D, Nakafusa Y, Miyazaki K, Tokunaga O. Differential expression of Janus kinase 3 (JAK3), matrix metalloproteinase 13 (MMP13), heat shock protein 60 (HSP60), and mouse double minute 2 (MDM2) in human colorectal cancer progression using human cancer cDNA microarrays. *Pathol Res Pract.* 2005; 201(12): 777-789.
140. Sperati CJ, Parekh RS, Berthier-Schaad Y, i wsp. Association of single-nucleotide polymorphisms in JAK3, STAT4, and STAT6 with new cardiovascular events in incident dialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 2009; 53(5): 845-855.
141. Klink M, Kielbik M, Nowak M, i wsp. JAK3, STAT3 and CD3-zeta signaling proteins status in regard to the lymphocytes function in patients with ovarian cancer. *Immunol Invest.* 2012; 41(4): 382-398.
142. Cavalcanti E, Gigante M, Mancini V, i wsp. JAK3/STAT5/6 pathway alterations are associated with immune deviation in CD8 T cells in renal cell carcinoma patients. *J Biomed Biotechnol.* 2010; 2010: 935764.
143. Wojciechowski D, Vincenti F. Targeting JAK3 in kidney transplantation: current status and future options. *Curr Opin Organ Transplant.* 2011; 16(6): 614-619.

144. Wu W, Sun XH. Janus kinase 3: the controller and the controlled. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2012; 44(3): 187-196.
145. Ghoreschi K, Laurence A, O'Shea JJ. Janus kinases in immune cell signaling. *Immunol Rev*. 2009; 228(1): 273-287.
146. Prchal-Murphy M, Semper C, Lassnig C, i wsp. TYK2 kinase activity is required for functional type I interferon responses in vivo. *PLoS One*. 2012; 7(6): e39141.
147. Derecka M, Gornicka A, Koralov SB, i wsp. Tyk2 and stat3 regulate brown adipose tissue differentiation and obesity. *Cell Metab*. 2012; 16(6): 814-824.
148. Yakubenko VP, Hsi LC, Cathcart MK, Bhattacharjee A. From macrophage IL-13 receptor to foam cell formation: mechanisms for alphaMbeta2 integrin interference. *J Biol Chem*. 2012.
149. Li Z, Ma B, Lu M, i wsp. Construction of Network for Protein Kinases That Play a Role in Acute Pancreatitis. *Pancreas*. 2012.
150. Tao JH, Zou YF, Feng XL, i wsp. Meta-analysis of TYK2 gene polymorphisms association with susceptibility to autoimmune and inflammatory diseases. *Mol Biol Rep*. 2011; 38(7): 4663-4672.
151. Oyamada A, Ikebe H, Itsumi M, i wsp. Tyrosine kinase 2 plays critical roles in the pathogenic CD4 T cell responses for the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol*. 2009; 183(11): 7539-7546.
152. Dymant DA, Cader MZ, Chao MJ, i wsp. Exome sequencing identifies a novel multiple sclerosis susceptibility variant in the TYK2 gene. *Neurology*. 2012; 79(5): 406-411.
153. Couturier N, Bucciarelli F, Nurtdinov RN, i wsp. Tyrosine kinase 2 variant influences T lymphocyte polarization and multiple sclerosis susceptibility. *Brain*. 2011; 134(Pt 3): 693-703.
154. Ban M, Goris A, Lorentzen AR, i wsp. Replication analysis identifies TYK2 as a multiple sclerosis susceptibility factor. *Eur J Hum Genet*. 2009; 17(10): 1309-1313.
155. Franke A, McGovern DP, Barrett JC, i wsp. Genome-wide meta-analysis increases to 71 the number of confirmed Crohn's disease susceptibility loci. *Nat Genet*. 2010; 42(12): 1118-1125.

156. Ishizaki M, Muromoto R, Akimoto T, i wsp. Tyk2 deficiency protects joints against destruction in anti-type II collagen antibody-induced arthritis in mice. *Int Immunol*. 2011; 23(9): 575-582.
157. Liu JZ, Almarri MA, Gaffney DJ, i wsp. Dense fine-mapping study identifies new susceptibility loci for primary biliary cirrhosis. *Nat Genet*. 2012; 44(10): 1137-1141.
158. Wan J, Fu AK, Ip FC, i wsp. Tyk2/STAT3 signaling mediates beta-amyloid-induced neuronal cell death: implications in Alzheimer's disease. *J Neurosci*. 2010; 30(20): 6873-6881.
159. Slattery ML, Lundgreen A, Kadlubar SA, i wsp. JAK/STAT/SOCS-signaling pathway and colon and rectal cancer. *Mol Carcinog*. 2011.
160. Sang QX, Man YG, Sung YM, i wsp. Non-receptor tyrosine kinase 2 reaches its lowest expression levels in human breast cancer during regional nodal metastasis. *Clin Exp Metastasis*. 2012; 29(2): 143-153.
161. Zhang Q, Sturgill JL, Kmiecik M, i wsp. The role of Tyk2 in regulation of breast cancer growth. *J Interferon Cytokine Res*. 2011; 31(9): 671-677.
162. Ide H, Nakagawa T, Terado Y, i wsp. Tyk2 expression and its signaling enhances the invasiveness of prostate cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008; 369(2): 292-296.
163. Lee YH, Choi SJ, Ji JD, Song GG. Associations between PTK and TYK2 polymorphisms and systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Inflamm Res*. 2012; 61(9): 949-954.
164. Cunninghame Graham DS, Morris DL, Bhangale TR, i wsp. Association of NCF2, IKZF1, IRF8, IFIH1, and TYK2 with systemic lupus erythematosus. *PLoS Genet*. 2011; 7(10): e1002341.
165. Jarvinen TM, Hellquist A, Koskenmies S, i wsp. Tyrosine kinase 2 and interferon regulatory factor 5 polymorphisms are associated with discoid and subacute cutaneous lupus erythematosus. *Exp Dermatol*. 2010; 19(2): 123-131.
166. Li P, Chang YK, Shek KW, Lau YL. Lack of association of TYK2 gene polymorphisms in Chinese patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 2011; 38(1): 177-178.

167. Minegishi Y, Karasuyama H. Hyperimmunoglobulin E syndrome and tyrosine kinase 2 deficiency. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2007; 7(6): 506-509.
168. Peluso C, Christofolini DM, Goldman CS, i wsp. TYK2 rs34536443 polymorphism is associated with a decreased susceptibility to endometriosis-related infertility. *Hum Immunol*. 2013; 74(1): 93-97.
169. Norman P. Selective JAK1 inhibitor and selective Tyk2 inhibitor patents. *Expert Opin Ther Pat*. 2012; 22(10): 1233-1249.
170. Swiatek-Machado K, Kaminska B. STAT signaling in glioma cells. *Adv Exp Med Biol*. 2013; 986: 189-208.
171. Watson CJ, Miller WR. Elevated levels of members of the STAT family of transcription factors in breast carcinoma nuclear extracts. *Br J Cancer*. 1995; 71(4): 840-844.
172. Bowman T, Garcia R, Turkson J, Jove R. STATs in oncogenesis. *Oncogene*. 2000; 19(21): 2474-2488.
173. Ma CS, Avery DT, Chan A, i wsp. Functional STAT3 deficiency compromises the generation of human T follicular helper cells. *Blood*. 2012; 119(17): 3997-4008.
174. Gouilleux-Gruart V, Gouilleux F, Desaint C, i wsp. STAT-related transcription factors are constitutively activated in peripheral blood cells from acute leukemia patients. *Blood*. 1996; 87(5): 1692-1697.
175. Weber-Nordt RM, Egen C, Wehinger J, i wsp. Constitutive activation of STAT proteins in primary lymphoid and myeloid leukemia cells and in Epstein-Barr virus (EBV)-related lymphoma cell lines. *Blood*. 1996; 88(3): 809-816.
176. Takemoto S, Mulloy JC, Cereseto A, i wsp. Proliferation of adult T cell leukemia/lymphoma cells is associated with the constitutive activation of JAK/STAT proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997; 94(25): 13897-13902.
177. Ichiba M, Miyazaki Y, Kitamura S, i wsp. Epidermal growth factor inhibits the growth of TE8 esophageal cancer cells through the activation of STAT1. *J Gastroenterol*. 2002; 37(7): 497-503.
178. Hsiao JR, Jin YT, Tsai ST, i wsp. Constitutive activation of STAT3 and STAT5 is present in the majority of nasopharyngeal carcinoma and correlates with better prognosis. *Br J Cancer*. 2003; 89(2): 344-349.

179. Kok SH, Hong CY, Kuo MY, i wsp. Oncostatin M-induced CCL2 transcription in osteoblastic cells is mediated by multiple levels of STAT-1 and STAT-3 signaling: an implication for the pathogenesis of arthritis. *Arthritis Rheum.* 2009; 60(5): 1451-1462.
180. Krause A, Scaletta N, Ji JD, Ivashkiv LB. Rheumatoid arthritis synoviocyte survival is dependent on Stat3. *J Immunol.* 2002; 169(11): 6610-6616.
181. Hong F, Jaruga B, Kim WH, i wsp. Opposing roles of STAT1 and STAT3 in T cell-mediated hepatitis: regulation by SOCS. *J Clin Invest.* 2002; 110(10): 1503-1513.
182. Mir SA, Chatterjee A, Mitra A, i wsp. Inhibition of signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) attenuates interleukin-6 (IL-6)-induced collagen synthesis and resultant hypertrophy in rat heart. *J Biol Chem.* 2012; 287(4): 2666-2677.
183. Liao M, Xu J, Clair AJ, i wsp. Local and systemic alterations in signal transducers and activators of transcription (STAT) associated with human abdominal aortic aneurysms. *J Surg Res.* 2012; 176(1): 321-328.
184. Park ES, Kim H, Suh JM, i wsp. Involvement of JAK/STAT (Janus kinase/signal transducer and activator of transcription) in the thyrotropin signaling pathway. *Mol Endocrinol.* 2000; 14(5): 662-670.
185. Berthier CC, Zhang H, Schin M, i wsp. Enhanced expression of Janus kinase-signal transducer and activator of transcription pathway members in human diabetic nephropathy. *Diabetes.* 2009; 58(2): 469-477.
186. Hong DS, Angelo LS, Kurzrock R. Interleukin-6 and its receptor in cancer: implications for translational therapeutics. *Cancer.* 2007; 110(9): 1911-1928.
187. Lai R, O'Brien S, Maushouri T, i wsp. Prognostic value of plasma interleukin-6 levels in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer.* 2002; 95(5): 1071-1075.
188. Evans MK, Yu CR, Lohani A, i wsp. Expression of SOCS1 and SOCS3 genes is differentially regulated in breast cancer cells in response to proinflammatory cytokine and growth factor signals. *Oncogene.* 2007; 26(13): 1941-1948.
189. Sutherland KD, Lindeman GJ, Choong DY, i wsp. Differential hypermethylation of SOCS genes in ovarian and breast carcinomas. *Oncogene.* 2004; 23(46): 7726-7733.

190. Baus D, Pfitzner E. Specific function of STAT3, SOCS1, and SOCS3 in the regulation of proliferation and survival of classical Hodgkin lymphoma cells. *Int J Cancer*. 2006; 118(6): 1404-1413.
191. Niwa Y, Kanda H, Shikauchi Y, i wsp. Methylation silencing of SOCS-3 promotes cell growth and migration by enhancing JAK/STAT and FAK signalings in human hepatocellular carcinoma. *Oncogene*. 2005; 24(42): 6406-6417.
192. Weber A, Hengge UR, Bardenheuer W, i wsp. SOCS-3 is frequently methylated in head and neck squamous cell carcinoma and its precursor lesions and causes growth inhibition. *Oncogene*. 2005; 24(44): 6699-6708.
193. Raccurt M, Tam SP, Lau P, i wsp. Suppressor of cytokine signalling gene expression is elevated in breast carcinoma. *Br J Cancer*. 2003; 89(3): 524-532.
194. Tamiya T, Kashiwagi I, Takahashi R, i wsp. Suppressors of cytokine signaling (SOCS) proteins and JAK/STAT pathways: regulation of T-cell inflammation by SOCS1 and SOCS3. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011; 31(5): 980-985.
195. el-Far M, Fouda M, Yahya R, el-Baz H. Serum IL-10 and IL-6 levels at diagnosis as independent predictors of outcome in non-Hodgkin's lymphoma. *J Physiol Biochem*. 2004; 60(4): 253-258.
196. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, i wsp. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1975; 46(2): 219-234.
197. Haffner MC, Petridou B, Peyrat JP, i wsp. Favorable prognostic value of SOCS2 and IGF-I in breast cancer. *BMC Cancer*. 2007; 7: 136.
198. Yoshimura A, Nishinakamura H, Matsumura Y, Hanada T. Negative regulation of cytokine signaling and immune responses by SOCS proteins. *Arthritis Res Ther*. 2005; 7(3): 100-110.
199. Masood KI, Rottenberg ME, Carow B, i wsp. SOCS1 gene expression is increased in severe pulmonary tuberculosis. *Scand J Immunol*. 2012; 76(4): 398-404.
200. Kim TH, Kim K, Park SJ, i wsp. Expression of SOCS1 and SOCS3 is altered in the nasal mucosa of patients with mild and moderate/severe persistent allergic rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol*. 2012; 158(4): 387-396.
201. Isomaki P, Alanara T, Isohanni P, i wsp. The expression of SOCS is altered in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2007; 46(10): 1538-1546.

202. Miyanaka Y, Ueno Y, Tanaka S, i wsp. Clinical significance of mucosal suppressors of cytokine signaling 3 expression in ulcerative colitis. *World J Gastroenterol*. 2007; 13(21): 2939-2944.
203. Sasi W, Jiang WG, Sharma A, Mokbel K. Higher expression levels of SOCS 1,3,4,7 are associated with earlier tumour stage and better clinical outcome in human breast cancer. *BMC Cancer*. 2010; 10: 178.
204. Martini M, Pallini R, Luongo G, i wsp. Prognostic relevance of SOCS3 hypermethylation in patients with glioblastoma multiforme. *Int J Cancer*. 2008; 123(12): 2955-2960.
205. Ridderstrale M, Amstrup J, Hilton DJ, i wsp. SOCS-3 is involved in the downregulation of the acute insulin-like effects of growth hormone in rat adipocytes by inhibition of Jak2/IRS-1 signaling. *Horm Metab Res*. 2003; 35(3): 169-177.
206. Krebs DL, Hilton DJ. A new role for SOCS in insulin action. Suppressor of cytokine signaling. *Sci STKE*. 2003; 2003(169): PE6.
207. Rui L, Yuan M, Frantz D, i wsp. SOCS-1 and SOCS-3 block insulin signaling by ubiquitin-mediated degradation of IRS1 and IRS2. *J Biol Chem*. 2002; 277(44): 42394-42398.
208. Ortiz-Munoz G, Martin-Ventura JL, Hernandez-Vargas P, i wsp. Suppressors of cytokine signaling modulate JAK/STAT-mediated cell responses during atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009; 29(4): 525-531.
209. Tong HV, Toan NL, Song le H, i wsp. Association of CISH -292A/T genetic variant with hepatitis B virus infection. *Immunogenetics*. 2012; 64(4): 261-265.
210. Tsao JT, Kuo CC, Lin SC. The analysis of CIS, SOCS1, SOCS2 and SOCS3 transcript levels in peripheral blood mononuclear cells of systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis patients. *Clin Exp Med*. 2008; 8(4): 179-185.
211. Hunter MG, Jacob A, O'Donnell L C, i wsp. Loss of SHIP and CIS recruitment to the granulocyte colony-stimulating factor receptor contribute to hyperproliferative responses in severe congenital neutropenia/acute myelogenous leukemia. *J Immunol*. 2004; 173(8): 5036-5045.
212. Khor CC, Vannberg FO, Chapman SJ, i wsp. CISH and susceptibility to infectious diseases. *N Engl J Med*. 2010; 362(22): 2092-2101.

STRESZCZENIE

Nadciśnienie tętnicze (NT) jest istotnym problemem epidemiologicznym i społecznym na świecie. W populacji polskiej na nadciśnienie tętnicze choruje ok. 30% społeczeństwa. W około 90% NT ma charakter pierwotny, a jego etiopatogeneza nie jest dokładnie poznana. Występowanie nadciśnienia tętniczego jest uznanym czynnikiem ryzyka rozwoju chorób sercowo-naczyniowych. Szacuje się, że powikłania nadciśnienia tętniczego są przyczyną ok. 7% zgonów światowej populacji osób dorosłych. Wiele badań poświęconych pierwotnemu nadciśnieniu tętniczemu wykazało, że patomechanizm tej choroby jest niezwykle złożony. Badania rodzin oraz bliźniąt monozygotycznych pokazują, że na ostateczny obraz nadciśnienia tętniczego wpływają zarówno czynniki środowiskowe jak i genetyczne.

Układ renina-angiotensyna-aldosteron jest jednym z najważniejszych mechanizmów regulujących ciśnienie tętnicze i gospodarkę wodno-elektrolitową organizmu. Istotnym szlakiem, który bierze udział w przekazywaniu informacji pomiędzy błonowym receptorem angiotensyny II i jądrem komórkowym jest ścieżka sygnałowa JaK/STAT. Szlak ten składa się z rodziny kinaz JAK oraz rodziny białek STAT. Rolę sprzężenia zwrotnego dla aktywacji szlaku JaK/STAT spełniają białka rodziny SOCS. Z dotychczas przeprowadzonych badań wynika, iż w przekazywaniu informacji związanej z pobudzeniem receptora dla angiotensyny II biorą udział wybrane białka szlaku JaK/STAT. Aktywacja szlaku JaK/STAT w komórkach mięśni gładkich naczyń powoduje ich wzrost i proliferację, co w konsekwencji prowadzi do wzrostu oporu obwodowego i podwyższenia ciśnienia tętniczego.

W ostatnich latach proces zapalny został uznany jak czynnik wpływający na rozwój nadciśnienia tętniczego. Istnieją doniesienia sugerujące bezpośredni wpływ komórek układu odpornościowego na wzrost ciśnienia tętniczego i wywołanie choroby nadciśnieniowej. Niepodważalny jest również fakt udziału szlaku JaK/STAT w procesie zapalnym. Nie wszystkie mechanizmy działania szlaku JaK/STAT są dokładnie poznane, a opublikowane badania sugerują odstępstwa od przyjętego modelu, w funkcjonowaniu niektórych jego elementów. Biorąc pod uwagę istotny wpływ układu RAA i coraz bardziej prawdopodobny udział procesu zapalnego na rozwój

nadciśnienia tętniczego zasadną wydaje się analiza zmienności struktury składowych kaskady JAK/STAT u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym.

Celem pracy była ocena częstości występowania wybranych polimorfizmów pojedynczych nukleotydów w sekwencjach kodujących genów: kinazy JAK3, TYK2, czynników STAT1, STAT3 oraz białek SOCS1, SOCS3 i CISH w populacji polskiej, ocena częstości występowania wybranych polimorfizmów pojedynczych nukleotydów w sekwencjach kodujących genów: kinazy JAK3, TYK2, czynników STAT1, STAT3 i białek SOCS1, SOCS3, CISH u osób z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym na tle populacji osób zdrowych oraz próba wyselekcjonowania polimorfizmów pojedynczych nukleotydów o działaniu ochronnym i wpływającym na rozwój nadciśnienia tętniczego.

Do badania włączono 455 osób populacji polskiej, w tym 297 pacjentów oddziału oraz poradni przyklinicznej Kliniki Hipertensjologii, Angiologii i Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu z rozpoznaniem pierwotnym nadciśnieniem tętniczym oraz 158 ochotników z prawidłowym ciśnieniem tętniczym. Rekrutację pacjentów i ochotników przeprowadzono w latach 2008-2012. Do ostatecznej analizy włączono 168 pacjentów z grupy badanej i 156 ochotników grupy kontrolnej. Wykonano badanie podmiotowe, przedmiotowe i laboratoryjne, w tym badania genetyczne (analiza polimorfizmów pojedynczych nukleotydów występujących w analizowanych genach: *TYK2*, *JAK3*, *CISH*, *SOCS1*, *SOCS3*, *STAT1*, *STAT3*).

W analizie końcowej ujęto 324 osoby. Średni wiek uczestników badania wyniósł $30,46 \pm 9,00$ lat, większość stanowili mężczyźni (54,76 %). SBP w całej analizowanej grupie średnio wynosiło $153,75 \pm 37,61$ mm Hg, a DBP $95,63 \pm 23,74$ mm Hg. Średni wskaźnik masy ciała badanych osób wykroczył poza przyjętą normę i wyniósł $25,16 \pm 5,16$ kg/m², a 17,55 % ochotników paliło papierosy. Parametry reakcji zapalnej kształtowały się w granicach przyjętych norm osiągając średnie równe dla hsCRP $2,34 \pm 1,88$ mg/l, WBC $6,38 \pm 1,71$ 10⁹/l i ESR $4,68 \pm 4,48$ mm/h.

Osoby z nadciśnieniem tętniczym w porównaniu do osób zdrowych istotnie różniły się wiekiem 35 (27-42) v 23 (22-27) lat, ($p < 0,01$) oraz płcią 26,81 % v 66,24 % kobiet ($p < 0,01$). Istotne różnice zaobserwowano również w BMI $21,71$ (19,98-23,86) v $27,17$ (24,00-30,93) kg/m² ($p < 0,01$) i WHR $0,77 \pm 0,07$ v $0,91 \pm 0,08$ ($p < 0,01$) odpowiednio dla grupy z nadciśnieniem tętniczym i kontrolnej. W ocenie ciśnienia

tętniczego mediany analizowanych grupy różniły się o 60/35 mm Hg. Osoby z nadciśnieniem tętniczym istotnie częściej paliły papierosy 29,60 % v 14,50 % ($p < 0,01$).

Również parametry metaboliczne istotnie różniły się pomiędzy analizowanymi grupami, średni całkowity cholesterol w grupie kontrolnej wyniósł $4,75 \pm 0,93$ mmol/l, zaś w grupie badanej $5,43 \pm 1,16$ mmol/l ($p < 0,01$), frakcja HDL odpowiednio $1,58 \pm 0,33$ v $1,39 \pm 0,32$ mmol/l ($p < 0,01$), frakcja LDL $2,74 \pm 0,76$ v $3,34 \pm 0,99$ mmol/l ($p < 0,01$), a glikemia $4,78 \pm 0,41$ v $5,21 \pm 0,49$ mmol/l ($p < 0,01$). W ocenie czynników reakcji zapalnej istotną różnicę zaobserwowano jedynie w liczbie WBC, które w grupie kontrolnej było niższe $5,67 \cdot 10^9/l$ od stężenia w grupie badanej $6,68 \cdot 10^9/l$ ($p < 0,01$).

Najistotniejszym elementem analizy była ocena występowania badanych SNP. Z 92 ocenianych polimorfizmów pojedynczych nukleotydów w 7 przypadkach nie udało się uzyskać wyników przynajmniej w jednej z analizowanych grup. W przypadkach 22 SNP występował tylko jeden allel. Pozostałe 63 polimorfizmy pojedynczych nukleotydów poddano dalszym analizom. Dokonano porównania częstości występowania ocenianych alleli w grupie kontrolnej z oczekiwaną częstością wynikającą z równania Hardy-Weinberga. W przypadku ośmiu SNP (seqrs622502, rs8064821, rs13029532, rs1547550, rs2280232, rs3816769, rs744166, rs9891119) częstości występowania w ocenianych grupach były istotnie różne od oczekiwanych. Przeprowadzona analiza częstości występowania alleli poszczególnych SNP w grupie kontrolnej badanej populacji z danymi zawartymi w bazie HapMap dla populacji europejskiej (CEU) nie wykazała istotnych różnic. Jedynie różnica częstości występowania alleli SNP rs743753, genu *CISH* była na granicy istotności statystycznej ($p = 0,05$). W przypadku ośmiu ocenianych SNP brak jest aktualnie danych w bazie HapMap na temat częstości występowania alleli populacji europejskiej. Częstość występowania czterech SNP była istotnie różna w badanych grupach, gdy analizowano genotypy. Polimorfizm rs3212701 genu *JAK3* częściej występował jako homozygota w grupie badanej niż w grupie kontrolnej 8,02 % v 2,56 % ($p = 0,05$). SNP rs3212714 genu *JAK3* w grupie z nadciśnieniem tętniczym występował istotnie częściej jako homozygota 12,96 % v 4,46 % ($p = 0,02$). W genie *JAK3* wykazano istotną różnicę w częstości występowania homozygoty SNP rs3212760 15,24 % w grupie z nadciśnieniem tętniczym i 6,08 % w grupie kontrolnej ($p = 0,02$). Polimorfizm rs16833177 w genie *STAT1* istotnie częściej był oznaczany jako homozygota 5,56 %

w grupie osób chorych niż w grupie osób zdrowych 1,28 % ($p=0,04$). W analizie alleli u osób z nadciśnieniem tętniczym istotnie częściej występował SNP rs3212701 genu *JAK3* 29,94 % v 22,76 % ($p=0,04$), rs3212714 genu *JAK3* 33,33 % v 26,11 % ($p=0,04$) oraz SNP genu *JAK3* rs3212760 38,41 % v 29,05% ($p=0,01$). W grupie zdrowych ochotników częściej występował SNP rs809451 genu *CISH*, który zidentyfikowano u 12,65 % osób z nadciśnieniem tętniczym i 18,59 % zdrowych uczestników badania ($p=0,03$). W analizie genotypów istotny związek z rozpoznaniem nadciśnienia tętniczego niezależnie od płci, wieku, BMI, stężenia glukozy i liczby WBC w surowicy wykazywał SNP genu *JAK3* rs3212760 [OR 2,24 (95%CI 1,20-4,20) $p=0,01$]. Obecność heterozygoty zwiększa prawdopodobieństwo rozpoznania nadciśnienia tętniczego 2,24 razy, a homozygoty allelu rzadkiego o 4,48 razy. W analizie alleli niezależnie od płci, wieku, BMI, stężenia glukozy i liczby WBC w surowicy obserwowano istotny wpływ na rozpoznanie nadciśnienia tętniczego alleli minor SNP rs3212760 [OR 9,80 (95%CI 1,89-50,62) $p=0,006$]. Obecność allelu minor SNP rs3212760 zwiększała o 9,8 razy prawdopodobieństwo rozpoznania nadciśnienia tętniczego.

WNIOSKI

1. Częstość występowania ocenianych polimorfizmów pojedynczych nukleotydów w sekwencjach kodujących genów kinazy *JAK3*, *TYK2*, czynników *STAT1*, *STAT3* oraz białek *SOCS1*, *SOCS3* i *CISH* w populacji polskiej nie różniła się istotnie od częstości obserwowanej w badaniach populacji północno- i zachodnioeuropejskiej (CEU).
2. Nie stwierdzono istotnych różnic w częstości występowania 59 z 63 ocenianych polimorfizmów pojedynczych nukleotydów w analizowanych grupach, zarówno dla genotypów jak i alleli. Częstości występowania ośmiu z tych SNP (gen *CISH*: rs1872184; gen *JAK3*: rs3212780, rs35458530, rs78955038; gen *SOCS1*: rs33932899, rs34595128; gen *SOCS3*: rs4969169; gen *TYK2*, rs12720270) była po raz pierwszy oceniana w populacji europejskiej.
3. Istotne różnice w częstość występowania wybranych polimorfizmów pojedynczych nukleotydów w grupie osób z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym na tle populacji zdrowej wykazano w przypadku 4 polimorfizmów w analizie genotypów (gen *JAK3*: rs3212701, rs3212714, rs3212760; gen *STAT1*: rs16833177) oraz 4 polimorfizmów w analizie alleli (gen *JAK3*: rs3212701,

rs3212714, rs3212760; gen *CISH*: rs809451). Wśród ocenianych polimorfizmów pojedynczych nukleotydów SNP rs809451 genu *CISH* wykazał działanie ochronne na rozwój nadciśnienia tętniczego.

4. SNP rs3212760 genu *JAK3* wykazał istotny, niezależny od wpływu płci, wieku, BMI, stężenia glukozy i liczby WBC w surowicy związek z rozpoznaniem pierwotnego nadciśnienia tętniczego zarówno w analizie genotypu jak i alleli, zwiększając prawdopodobieństwo rozpoznania od 2,24 do 9,80 razy.

ABSTRACT

Hypertension (HT) is an important epidemiological and social problem in the world. About 30% of the Polish population suffers from higher blood pressure. In approximately 90% of cases of HT etiology is not well understood. The occurrence of elevated levels of blood pressure is a leading risk factor for cardiovascular disease. It is estimated that higher blood pressure, by its complications is a cause of death in around 7% of cases in the adult population worldwide. Many studies on essential hypertension showed that the pathogenesis of this disease is extremely complex. Studies of families and identical twins show that both environmental and genetic factors affect the presence of hypertension.

The renin-angiotensin-aldosterone system is one of the most important mechanisms that regulate blood pressure and water and electrolyte balance of the body. An important pathway, which is involved in the transmission of information between the membrane receptor of the angiotensin II and the nucleus is a signal path JaK/STAT. The pathway is made up of the JAK kinases' family and the STAT proteins' family. The role of the feedback for activation of the JaK/STAT path is the family of SOCS proteins. The studies conducted so far show that in the transduction of a signal related to the activation of angiotensin II receptor are involved selected proteins of the JaK/STAT path. Activation of the JaK/STAT pathway in vascular smooth muscle cells results in their growth and proliferation, which in turn leads to an increase in peripheral resistance and an increase in blood pressure.

In recent years, the inflammatory process has been recognized as a factor influencing the development of hypertension. There are reports suggesting a direct effect of the cells of the immune system on the blood pressure elevation and induction of hypertension. Undeniable is fact that the JaK/STAT pathway participates in the inflammatory process. Not all mechanisms of the JaK/STAT pathway are thoroughly understood, and published studies suggest derogation from the previously adopted model of some of its elements. Given the significant impact of the RAA system and more likely part of the inflammatory process in the development of hypertension analysis of the JaK/STAT cascade components variation in patients with hypertension seems reasonable.

The aim of this study was to evaluate the prevalence of selected single nucleotide polymorphisms in genes' encoding sequences: JAK3 and TYK2 kinases, STAT1 and STAT3 factors and SOCS1, SOCS3 and CISH proteins in the Polish population and the prevalence of selected single nucleotide polymorphisms in the coding sequences of genes: JAK3 and TYK2 kinase, STAT1, STAT3 factors, and SOCS1, SOCS3, CISH proteins in patients with essential hypertension on the background of the healthy population and an attempt to select single nucleotide polymorphisms with the protective effect and influencing on the development of hypertension.

The study included 455 subjects of the Polish population, including 297 patients from the ward and outpatient clinic of the Department of Hypertension, Angiology and Internal Medicine of the Poznan University of Medical Sciences with diagnosed essential hypertension and 158 subjects with normal blood pressure. Recruitment of the patients and volunteers was conducted in 2008-2012. The final analysis included 168 patients in the study group and 156 subjects in the control group. Symptoms, signs and laboratory tests, including genetic tests (analysis of single nucleotide polymorphisms in the analyzed genes: *TYK2*, *JAK3*, *CISH*, *SOCS1*, *SOCS3*, *STAT1*, *STAT3*) were performed.

Finally 324 people were taken to the analysis. The average age of participants was $30,46 \pm 9,00$ years, the majority were male (54,76%). Average SBP in the total group was $153,75 \pm 37,61$ mm Hg and DBP $95,63 \pm 23,74$ mm Hg. Average body mass index of the subjects was above norm and was $25,16 \pm 5,16$ kg/m² and 17,55% of the subjects smoked cigarettes. Inflammatory parameters were within the accepted standards mean: hsCRP was $2,34 \pm 1,88$ mg/l, WBC $6,38 \pm 1,71$ 10⁹/l and ESR $4,68 \pm 4,48$ mm/h.

People with hypertension compared to healthy subjects differed significantly in age 35 (27-42) v 23 (22-27) years, ($p < 0,01$) and gender 26,81% v 66,24% of women, ($p < 0,01$). Significant differences were also observed in the BMI 21,71 (19,98-23,86) v 27,17 (24,00-30,93) kg/m², ($p < 0,01$) and WHR $0,77 \pm 0,07$ v $0,91 \pm 0,08$, ($p < 0,01$) respectively for the group with hypertension and controls. Medians of the blood pressure levels differ between groups by 60/35 mm Hg. People with hypertension significantly more often smoked cigarettes 29,60% v 14,50%, ($p < 0,01$).

Also, metabolic parameters differed significantly between analyzed groups, the average total cholesterol in the control group was $4,75 \pm 0,93$ mmol/l, whereas in the group with hypertension $5,43 \pm 1,16$ mmol/l ($p < 0,01$); HDL cholesterol $1,58 \pm 0,33$ v $1,39 \pm 0,32$ mmol/l ($p < 0,01$), LDL cholesterol $2,74 \pm 0,76$ v $3,34 \pm 0,99$ mmol/l ($p < 0,01$) and glucose $4,78 \pm 0,41$ v $5,21 \pm 0,49$ mmol/l ($p < 0,01$) respectively. In the assessment of inflammatory factors, a significant difference was observed only in the number of WBC, which was lower in the control group than in the group with hypertension ($5,67 \cdot 10^9/l$ v $6,68 \cdot 10^9/l$ ($p < 0,01$)).

The most important part of the analysis was the evaluation of the occurrence of SNPs. Of the 92 evaluated single nucleotide polymorphisms in 7 cases results in at least one of the analyzed groups were not achieved. In 22 cases, only one SNP allele occurred. The remaining 63 single nucleotide polymorphisms were further analyzed. A comparison of the frequency of allele assessed in the control group with the expected frequency of the equations resulting from Hardy-Weinberg equilibrium was performed. In the case of eight SNPs (seqrs622502, rs8064821, rs13029532, rs1547550, rs2280232, rs3816769, rs744166, rs9891119) their incidence in the study groups was significantly different from the expected.

The analysis of the incidence of each SNP allele in the control group of the study population in comparison to data in the HapMap base for European population (CEU) showed no significant differences. Only the difference in frequency of rs743753 SNP alleles of *CISH* gene was with border statistical significance ($p = 0,05$). In the case of eight of evaluated SNP there is no data about frequency in the European population alleles in the HapMap base. In genotype evaluation the incidence of four SNPs was significantly different between analyzed groups. Polymorphism rs3212701 of the *JAK3* gene was more frequent as homozygous in the study group than in the control group, 8,02% v 2,56% ($p = 0,05$). SNP rs3212714 of the *JAK3* gene in the group with hypertension occurred significantly more often as homozygous than in the control group 12,96% v 4,46% ($p = 0,02$). SNPs rs3212760 of the *JAK3* gene showed a significant difference in the incidence of homozygous 15,24% in the group with hypertension and 6,08% in the control group ($p = 0,02$). Polymorphism rs16833177 in the gene *STAT1* was significantly more marked as homozygous in the group of hypertensive patients 5,56% than in the healthy control group 1,28% ($p = 0,04$).

In the analysis of alleles SNP rs3212701 of the *JAK3* gene 29,94% v 22,76% ($p = 0,04$), SNP rs3212714 of the *JAK3* gene 33,33% v 26,11% ($p = 0,04$) and SNP rs3212760 of the *JAK3* gene 38,41% v 29,05% ($p = 0,01$) were observed more frequent in the group of hypertensive patients in comparison to control group. In a group of healthy volunteers, SNP rs809451 of the *CISH* gene was present more often, it was identified in 12,65% of patients with hypertension and 18,59% of healthy subjects ($p = 0,03$). In the analysis of genotypes SNP rs3212760 of the *JAK3* gene was significantly associated with a diagnosis of hypertension, regardless of sex, age, BMI, blood glucose and serum WBC count [OR 2.24 (95% CI 1,20-4,20) $p = 0,01$]. The presence of the heterozygote increases the probability of the diagnosis of hypertension 2,24 times, and the rare allele homozygotes 4,48 times. In the analysis of alleles, irrespective of gender, age, BMI, blood glucose and WBC count, a significant relationship of the minor allele of the SNP rs3212760 and the diagnosis of hypertension was observed [OR 9.80 (95% CI 1,89-50,62) $p = 0.006$]. The presence of minor allele of SNP rs3212760 increased the likelihood of diagnosis of hypertension 9,8 times.

Conclusions

1. The incidence of the evaluated single nucleotide polymorphisms in genes encoding sequences of kinases *JAK3*, *TYK2*, factors *STAT1*, *STAT3*, and proteins *SOCS1*, *SOCS3* and *CISH* in the Polish population was not significantly different from that observed in the study population of northern and western Europe (CEU).
2. There were no significant differences in the incidence of 59 of 63 evaluated single nucleotide polymorphisms in the analyzed groups for both genotypes and alleles. The incidence of eight of these SNPs (*CISH* gene: rs1872184; *JAK3* gene: rs3212780, rs35458530, rs78955038, *SOCS1* gene: rs33932899, rs34595128, *SOCS3* gene: rs4969169; *TYK2* gene, rs12720270) was evaluated in the European population for the first time.
3. Significant differences in the incidence of selected single nucleotide polymorphisms in patients with essential hypertension in comparison to a healthy population was revealed in the case of four polymorphisms in the analysis of genotypes (*JAK3* gene: rs3212701, rs3212714, rs3212760, *STAT1* gene: rs16833177) and four polymorphisms in the analysis of alleles (*JAK3*

gene: rs3212701, rs3212714, rs3212760, *CISH* gene: rs809451). Among the evaluated single nucleotide polymorphisms SNP rs809451 of *CISH* gene revealed a protective effect on the development of hypertension.

4. SNP rs3212760 of the *JAK3* gene showed a significant, independent of gender, age, BMI, blood glucose and serum WBC count, association with a diagnosis of essential hypertension in both the analysis of genotype and allele, increasing the likelihood of diagnosis of hypertension from 2,24 to 9,80 times.

SPIS TABEL I RYCIN

Tabela 1. Geny kandydujące w nadciśnieniu tętniczym w badaniach całego genomu.	17
Tabela 2. Geny kandydujące w nadciśnieniu tętniczym najczęściej oceniane w badaniach asocjacji.	19
Tabela 3. SNP związane z SBP, DBP lub nadciśnieniem tętniczym z badania CHARGE.	22
Tabela 4. SNP związane z SBP, DBP lub nadciśnieniem tętniczym z badania ICBP.	23
Tabela 5. Aktywacja kinaz rodziny JAK i białek STAT w zależności od ligandów.	36
Tabela 6. Liczba opisanych i badanych SNP w wybranych genach.	42
Tabela 7. Charakterystyka uczestników badania.	51
Tabela 8. Porównanie zmiennych antropometrycznych i wybranych elementów stylu życia. ..	52
Tabela 9. Porównanie parametrów biochemicznych.	53
Tabela 10. SNP, dla których nie uzyskano wyników.	54
Tabela 11. SNP monoalleliczne w badanej populacji.	54
Tabela 12. Analiza częstości występowania alleli w grupie kontrolnej badanej populacji i populacji europejskiej bazy HapMap.	57
Tabela 13. Częstość występowania ocenianych alleli w populacji polskiej, dla których brak danych o częstości występowania w populacji europejskiej.	57
Tabela 14. Analiza różnic częstości występowania SNP względem równania Hardy-Weinberga i pomiędzy badanymi grupami dla genotypów i alleli.	66
Tabela 15. Analiza regresji logistycznej dla parametrów istotnie różnych w badanych grupach.	67
Rycina 1. Czynniki środowiskowe wpływające na ciśnienie tętnicze.	12
Rycina 2. Szlak powstawania angiotensyn.	26
Rycina 3. Podstawowe mechanizmy działania układ RAA na ciśnienie tętnicze wraz z miejscami blokady za pomocą dostępnych leków.	29
Rycina 4. Model działania sekwencji sygnałowej JaK/STAT.	34
Rycina 5. Model hamowania szlaku JaK/STAT poprzez białka SOCS.	35
Rycina 6. Schemat badania.	41
Rycina 7. Umieszczenie wybranych SNP w genie <i>TYK2</i>	43
Rycina 8. Umieszczenie wybranych SNP w genie <i>SOCS1</i>	43
Rycina 9. Etapy analizy polimorfizmów metodą <i>GoldenGate® Genotyping for VeraCode®</i>	49
Rycina 10. Związek genotypu SNP rs3212701 genu <i>JAK3</i> z nadciśnieniem tętniczym skorygowany względem wieku, płci, BMI, stężenia glukozy i liczby WBC w surowicy.	68
Rycina 11. Związek genotypu SNP rs3212714 genu <i>JAK3</i> z nadciśnieniem tętniczym skorygowany względem wieku, płci, BMI, stężenia glukozy i liczby WBC w surowicy.	68
Rycina 12. Związek genotypu SNP rs3212760 genu <i>JAK3</i> z nadciśnieniem tętniczym skorygowany względem wieku, płci, BMI, stężenia glukozy i liczby WBC w surowicy.	69
Rycina 13. Związek genotypu SNP rs16833177 genu <i>STAT1</i> z nadciśnieniem tętniczym skorygowany względem wieku, płci, BMI, stężenia glukozy i liczby WBC w surowicy.	69
Rycina 14. Związek allelu minor SNP rs3212701 genu <i>JAK3</i> z nadciśnieniem tętniczym skorygowany względem wieku, płci, BMI, stężenia glukozy i liczby WBC w surowicy.	70
Rycina 15. Związek allelu minor SNP rs3212714 genu <i>JAK3</i> z nadciśnieniem tętniczym skorygowany względem wieku, płci, BMI, stężenia glukozy i liczby WBC w surowicy.	70

Rycina 16. Związek allelu minor SNP rs3212760 genu <i>JAK3</i> z nadciśnieniem tętniczym skorygowany względem wieku, płci, BMI, stężenia glukozy i liczby WBC w surowicy.	71
Rycina 17 Związek allelu minor SNP rs809451 genu <i>CISH</i> z nadciśnieniem tętniczym skorygowany względem wieku, płci, BMI, stężenia glukozy i liczby WBC w surowicy.	71

PODZIĘKOWANIA

Szczególne podziękowania kieruję do Pani prof. Doroty Zozulińskiej-Ziółkiewicz, która wzbudziła we mnie chęć dociekania istoty rzeczy nieznanych i czuwała nad moimi pierwszymi krokami w niełatwym naukowym świecie.

Dziękuję zespołowi Katedry i Kliniki Hipertensjologii, Angiologii i Chorób Wewnętrznych szczególnie Ludwinie Szczepaniak-Chicheł, Katarzynie Kostce-Jeziorny oraz Teresie Kosickiej za merytoryczne wsparcie i pomoc w rekrutacji pacjentów.

Za wprowadzenie w arkana biologii molekularnej oraz wsparcie laboratoryjne dziękuję pracownikom i doktorantom Zakładu Genetyki Molekularnej Człowieka Małgorzacie Rydzanicz, Kindze Humińskiej, Hannie Nowickiej, Elżbiecie Zdro, Tomaszowi Wrześcińskiemu i Natalii Wujak.

Paniom Dorocie Kowalik, Annie Zarzecznej i Małgorzacie Kasprzak, pielęgniarkom Oddziału Hipertensjologii, Angiologii i Chorób Wewnętrznych Szpitala Klinicznego Przemienienia Pańskiego, dziękuję za wsparcie w pobieraniu krwi od uczestników badania.

Dziękuję ochotnikom, którzy zgodzili się wziąć udział w badaniu, bo bez ich zaangażowania powstanie tej pracy nie byłoby możliwe.

Alkohol

Czy pije Pani/Pan alkohol? **TAK** **NIE**

W jakim wieku zaczęła/ął Pani/Pan pić alkohol? Od ilu lat nie pije Pani/Pan alkoholu?

Jak często pije Pani/Pan piwo? _____ Ile kufli piwa przeciętnie, za jednym razem Pani/Pan wypija? Ile ml piwa przeciętnie, za jednym razem Pani/Pan wypija? ml

Jak często pije Pani/Pan wino owocowe? _____ Ile lampek wina przeciętnie za jednym razem Pani/Pan wypija? Ile ml wina przeciętnie, za jednym razem Pani/Pan wypija? ml

Jak często pije Pani/Pan wódkę? _____ Ile kieliszków wódki przeciętnie za jednym razem Pani/Pan wypija? Ile ml wódki przeciętnie, za jednym razem Pani/Pan wypija? ml

Jak często pije Pani/Pan whisky, brandy, koniak? _____ Ile kieliszków whisky, brandy, koniaku przeciętnie, za jednym razem Pani/Pan wypija? Ile ml whisky, brandy, koniaku przeciętnie, za jednym razem Pani/Pan wypija? ml

Jak często pije Pani/Pan likiery, nalewki? _____ Ile kieliszków likieru, nalewki przeciętnie, za jednym razem Pani/Pan wypija? Ile ml likieru, nalewki przeciętnie, za jednym razem Pani/Pan wypija? ml

Jak często pije Pani/Pan napoje energetyzujące (np. Red Bull)? _____ Ile napojów energetyzujących przeciętnie, za jednym razem Pani/Pan wypija? Ile ml napojów energetyzujących za jednym razem Pani/Pan wypija? ml

Czy pije Pani/Pan inne alkohole? **TAK** **NIE**

Wysiętek fizyczny

Czy Pani/Pan pracuje: **TAK** **PEŁNY ETAT** **NIEPEŁNY ETAT**
NIE **STUDENT/UCZEŃ** **RENTA** **EMERYTURA** **BEZROBOTNA/Y**

Czy Pani/Pan pracuje na zmianę? **TAK** **NIE**

Gdzie Pani/Pan pracuje? _____

Zawód wykonywany? _____

Ile godzin dziennie Pani/Pan pracuje? **godz.** Ile dni w tygodniu Pani/Pan pracuje? Ile czasu spędza Pani/Pan na stojąco w godzinach pracy? **godz.** Ile czasu spędza Pani/Pan na siedząco w godzinach

pracy? **godz.** Ile czasu spędza Pani/Pan chodząc w godzinach pracy? **godz.** Ile czasu dźwiga Pani/Pan rzeczy ważące 5-10kg w godzinach pracy? **min.** Ile czasu dźwiga Pani/Pan rzeczy ciężkie >10kg w godzinach pracy? **min.** Ile czasu spędza Pani/Pan chodząc pieszo do i z pracy, szkoły, zakupów? **min.** Ile czasu spędza Pani/Pan jeżdżąc na rowerze do i z pracy, szkoły, zakupów? **min.** Ile czasu w tygodniu spędza Pani/Pan spacerując rekreacyjnie? **min.**

Czy odczuwa Pani/Pan brak tchu, duszność po:

spokojnym spacerze	TAK <input type="checkbox"/>	NIE <input type="checkbox"/>
szybkim chodzeniu	TAK <input type="checkbox"/>	NIE <input type="checkbox"/>

Ile czasu dziennie spędza Pani/Pan na umiarkowanej aktywności fizycznej w domu (np. sprząatanie, odkurzanie, pranie ręczne)? _____

Czy odczuwa Pani/Pan brak tchu, duszność po wyżej wymienionych czynnościach domowych?
TAK **NIE**

Czy uprawiał/a Pani/Pan sport więcej niż 12 razy w ciągu ostatnich 12 miesięcy:

wyczynowo	TAK <input type="checkbox"/>	NIE <input type="checkbox"/>
dla przyjemności	TAK <input type="checkbox"/>	NIE <input type="checkbox"/>

Na czym najczęściej polegał Pani/Pana wysiłek fizyczny? _____

Ile miesięcy w ciągu ostatniego roku uprawiał/a Pani/Pan sport? Ile razy w tygodniu Pani/Pan uprawia sport? _____ Ile czasu za każdym razem poświęca Pani/Pan na uprawianie sportu? _____ Czy odczuwa Pani/Pan brak tchu, duszność po uprawianym sporcie?

TAK **NIE**

Czy uprawia Pani/Pan sport dla przyjemności lub wyczynowo regularnie częściej niż 12 razy przez ostatni rok?
TAK **NIE**

Jaki sport uprawiał/a Pani/Pan najbardziej regularnie w ciągu ostatniego roku? _____

Od jakiego czasu zaprzestał/a Pani Pan uprawiania tego regularnego wysiłku? _____

Jaki aktualnie wykonuje Pani/Pan wysiłek fizyczny poza godzinami pracy? _____

Spożycie soli

Czy spożywa Pani/Pan głównie produkty świeże? **TAK** **NIE**

Czy spożywa Pani/Pan głównie produkty konserwowe? **TAK** **NIE**

Czy dosala Pani/Pan potrawy? **TAK** **NIE**

Stres

Jak ocenia Pani/Pan swoje codzienne życie pod względem stresu w skali 1-10?



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Collegium Maius
ul. Fredry 10
61-701 Poznań

tel. (+48 61) 854 62 51, 854 60 60
fax. (+48 61) 854 61 07
www.bioetyka.ump.edu.pl

Uchwała nr 499/08

Na podstawie art. 29 ustawy z dnia 5 grudnia 1996r. o zawodzie lekarza i lekarza dentystry (t.j. Dz.U.z 2002r. Nr 21, poz.204 ze zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz.U. Nr 47, poz.480); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 11 marca 2005r. w sprawie szczegółowych wymagań Dobrej Praktyki Klinicznej (Dz.U. Nr 57, poz. 500); Ustawy z dnia 6 września 2001r. Prawo farmaceutyczne (t.j. Dz.U. z 2004r. Nr 53, poz. 533 ze zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 3 stycznia 2007r. w sprawie wzoru wniosku o rozpoczęcie badania klinicznego produktu leczniczego oraz o wydanie przez komisję bioetyczną opinii o badaniu klinicznym produktu leczniczego, kierując się Zasadami Prawidłowego Prowadzenia Badań Klinicznych – GCP – opracowanymi w oparciu o Deklarację Helsińską.

Komisja, na posiedzeniu w dniu: 15 maja 2008 r.

rozpatrzyła wniosek, który przedstawił Pan:

prof. dr hab. Andrzej Tykarski

w sprawie prowadzenia badań w

**Klinice Hipertensjologii, Angiologii i Chorób Wewnętrznych
UM w Poznaniu**

Główny badacz: lek. med. Paweł Uruski

Temat

**badania: "Ocena wpływu czynników genetycznych na występowanie
pierwotnego nadciśnienia tętniczego".**

Komisja wyraża zgodę na prowadzenie badań

Przewodniczący Komisji

Prof. zw. dr hab. med. Zygmunt Przybylski