

Rozwój niewydolności serca w przebiegu choroby wieńcowej – rola czynników genetycznych

Development of heart failure in the course of coronary artery disease – the role of genetic factors

Anna Kozieradzka, Karol Kamiński*, Włodzimierz J. Musiał

Klinika Kardiologii, Akademia Medyczna, Białystok

Streszczenie

Niewydolność serca jest chorobą o wzrastającej częstości występowania oraz o dużej śmiertelności, w zaawansowanych stadiach porównywalnej z chorobami nowotworowymi. Jedną z jej głównych przyczyn jest choroba wieńcowa, a w szczególności zawał serca. Możliwość wyłonienia grupy obciążonej wysokim ryzykiem rozwoju niewydolności serca w przebiegu choroby wieńcowej mogą stworzyć badania genetyczne. Na szczególną uwagę zasługuje zmienność genów związanych z układem renina-angiotensyna-aldosteron: polimorfizm insercja/delecja (I/D) genu enzymu konwertującego angiotensynę, różne warianty genu angiotensynogenu, receptorów angiotensyny (AT1 i AT2) i syntazy aldosteronu. Innymi genami, których formy mogą wpływać na upośledzenie funkcji serca, są geny receptorów adrenergicznych (β 1, β 2, α 2C), deaminazy-1 AMP, endoteliny-1, śródbłonkowej syntazy tlenku azotu (eNOS), pre-ANP, pre-BNP oraz geny czynników zapalnych (TNF- α , IL-6, MCP-1, TGF, MMP-2). Reakcja organizmu na lek jest także w dużej mierze uwarunkowana genetycznie. Zajmująca się tą tematyką farmakogenetyka stwarza nowe możliwości optymalnego dostosowania terapii do konkretnego pacjenta z niewydolnością serca. Badanie genetycznego podłoża niewydolności serca ma w tym świetle wymiar nie tylko naukowy, ale i praktyczny.

Abstract

The number of patients suffering from heart failure is constantly increasing. One of its main causes is coronary artery disease, especially myocardial infarction. Progression of heart failure depends both on the extent of ischaemic injury and the course of subsequent adaptive processes. Genetic methods may help to find individuals at high risk of developing heart failure. There are multiple genes influencing circulatory system, some of their alleles may potentially affect progression of the disease. Among the most promising targets are genes of the renin-angiotensin-aldosterone system: insertion/deletion (I/D) polymorphism of angiotensin converting enzyme gene, polymorphisms of angiotensinogen, angiotensin receptors (AT1 and AT2) and aldosterone syntase genes. Other genetic factors, which may affect are different gene variants of adrenergic receptors (β 1, β 2, α 2C), AMP deaminase-1, endothelin-1, endothelial nitric oxide syntase, precursors of natriuretic peptides and inflammatory factors (TNF- α , IL-6, MCP-1, TGF, MMP-2). Furthermore, the response to drugs may depend on genetic background, that is why pharmacogenetics creates new possibilities to tailor the best therapy for each patients with heart failure. Therefore research in the field of genetic factors affecting the development of heart failure has not only scientific, but also practical value.

Kardiol Pol 2005; 63; 4 (Supl. 2): 440-449

Epidemiologia i etiologia niewydolności serca

Niewydolność serca (HF) jest poważnym problemem klinicznym i społecznym. Szacuje się, że dotyczy 0,4–2% populacji europejskiej [1]. W Polsce częstość występowania HF wśród pacjentów 65-letnich i starszych zgłaszających się do lekarza pierwszego kontaktu wynosiła

53,2% [2]. Brakuje precyzyjnych danych, gdyż badania populacyjne dotyczące rozwoju HF w przebiegu choroby wieńcowej (CAD) są nieliczne i trudne do porównania ze względu na różnice w stosowanej metodyce.

Za główne przyczyny HF uważa się chorobę niedokrwinną serca (IHD) i nadciśnienie tętnicze. W bada-

*Uwagi o finansowaniu:

dr n. med. Karol Kamiński jest stypendystą Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej

Adres do korespondencji:

dr n. med. Karol Kamiński, Klinika Kardiologii Akademii Medycznej, ul. Marii Skłodowskiej-Curie 24 a, 15-276 Białystok, e-mail: fizklin@poczta.onet.pl

niu Framingham choroba wieńcowa lub nadciśnienie poprzedzały 90% przypadków choroby [3]. W krajowej populacji chorych z HF choroba wieńcowa występowała u 80% kobiet i 87% mężczyzn, a nadciśnienie odpowiednio u 77% i 64% [2]. Idiopatyczną kardiomiopatię rozstrzeniową (IDC) uznano za przyczynę niewydolności jedynie u 6% kobiet i 8% mężczyzn. Postacią choroby wieńcowej szczególnie często prowadzącą do niewydolności jest zawał serca. Według Scotta niewydolność serca po zawale rozwija się u 30% pacjentów z cukrzycą i 18% bez cukrzycy [4]. Szacując liczbę zawałów w Polsce na kilkadziesiąt tysięcy rocznie, można oczekiwać, że co roku niewydolność serca z tego powodu rozwinię się u niemal 20 000 osób. Śmiertelność z powodu HF jest bardzo wysoka, w badaniu Framingham 5-letnie przeżycie wynosiło jedynie 25% u mężczyzn i 38% wśród kobiet [5].

Rozwój niewydolności serca w chorobie niedokrwiennej

Długotrwałe niedokrwienie oraz zawał predysponują do rozwoju niewydolności serca. Następstwem przewlekłego niedokrwienia mogą być zarówno odwracalne zaburzenia czynności mięśnia sercowego, określane mianem zamrożenia, jak też nieodwracalne procesy, takie jak utrata kardiomiocytów i zastępcze włóknienie tkanki prowadzące do upośledzenia funkcji lewej komory. Zawał serca powoduje ostrą martwicę komórek mięśniowych w obszarze zaopatrywanym przez tętnicę dozawalową. Śmierć lub dysfunkcja części komórek powoduje wzrost obciążenia pozostałych, które dążą do optymalizacji wydatków energetycznych. Prowadzić do tego ma reekspresja płodowego zestawu genów (m.in. czynników transkrypcyjnych c-fos, c-myc, c-jun i Egr-1), w tym izoform białek kurczliwych – bardziej wydajnych energetycznie, lecz mniej sprawnych. W rezultacie dochodzi do pogorszenia kurczliwości. Mechanizmem kompensującym spadek kurczliwości ma być przerost mięśnia. Po zawale dochodzi również do aktywacji neurohormonalnych mechanizmów kompensacyjnych: współczulnego układu nerwowego (SNS), układu renina-angiotensyna-aldosteron (RAA) i produkcji hormonu antydiuretycznego (ADH). Ich zadaniem jest utrzymanie prawidłowego rzutu serca, lecz stałe pobudzenie w warunkach nieodwracalnego uszkodzenia powoduje dalszy wzrost obciążenia, uruchamiając błędne koło. Zmiany w szlakach przekazywania sygnału w komórce wzmagają apoptozę, odkładanie kolagenu w przestrzeni zewnątrzkomórkowej i zaburzają homeostazę wapnia w miocycie. Efektem tego jest patologiczny przerost, przebudowa macierzy zewnątrzkomórkowej, postępująca rozstrzeń i zmiana geometrii lewej komory, co w efekcie prowadzi do jej dysfunkcji.

Rozwój niewydolności serca można uznać za wypadkową uszkodzenia wywołanego niedokrwieniem i następczych procesów niewłaściwej adaptacji. Poszukiwane są stany sprzyjające procesom prowadzącym do niewydolności serca. W tej chwili za czynniki ryzyka HF po zawale uznaje się wiek, płeć żeńską, cukrzycę i przyspieszoną częstość pracy serca w ostrej fazie zawału. Dodatkowe możliwości wytonienia grupy obciążonej wysokim ryzykiem mogą stworzyć badania genetyczne. Obiecującym przedmiotem badań mogą być geny wpływające na stężenie lub aktywność substancji związanych z rozwojem niewydolności serca (Rycina 1.).

Genetyczne uwarunkowanie niedokrwiennego uszkodzenia mięśnia sercowego

Kompleks zmian w mięśniu sercowym powstających w wyniku niedokrwienia nazywany jest przez niektórych kardiomiopatią niedokrwinną. Jej rozwojowi sprzyjać będą allele powodujące przyspieszenie miażdżycy naczyń wieńcowych. Z drugiej strony duże znaczenie może mieć również odporność mięśnia sercowego na niedokrwienie oraz zdolność aktywacji mechanizmów kompensacyjnych. Odnosi się to zarówno do reakcji na niedokrwienie pojedynczych komórek, jak też całego narządu, w tym do angiogenezy, stymulacji odpowiedzi zapalnej, rozrostu tkanki łąkowej oraz zmiany geometrii lewej komory.

Doniesienia na temat wpływu czynników genetycznych na rozwój niewydolności serca po zawale są nieliczne. Przeprowadzono szereg badań genetycznych typu case-control na grupach pacjentów z niewydolnością krążenia bez uwzględniania etiologii. Mechanizmy progresji niewydolności serca w pewnym momencie stają się podobne. Jednak kardiomiopatia idiopatyczna, niedokrwienna oraz uszkodzenie toksyczne mają tak różnicowaną etiologię, że trudno jest zbiorczo właściwie analizować czynniki genetyczne sprzyjające tym procesom. Dostępna literatura opisująca czynniki predysponujące do rozwoju HF w przebiegu IHD jest dość ograniczona.

Rola stymulacji adrenergicznej

Aminy katecholowe pobudzają receptory α - i β -adrenergiczne. Na komórkach mięśniowych występują głównie receptory β_1 oraz α_1 , w mniejszej ilości β_2 i β_3 .

Efektem wiązania z receptorami β jest stymulacja białka Gs, aktywacja cykazy adenylanowej, wzrost kurczliwości i wydłużenie fazy relaksacji włókien mięśniowych. Pobudzenie receptorów α_1 prowadzi do aktywacji podjednostki Gq i szlaku fosfolipazy C (PLC). Obie kaskady mają zdolność aktywacji czynników transkryp-

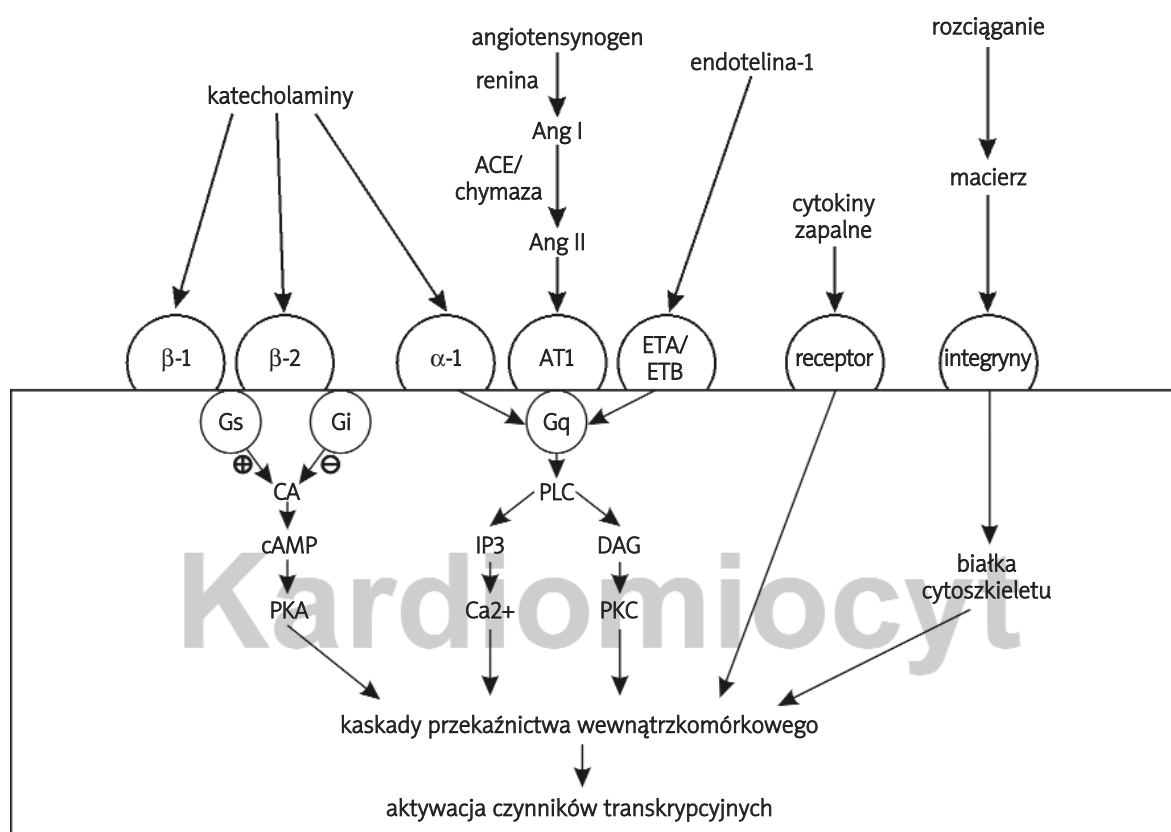
cyjnych (MEF2, GATA4, Nkx2.5) i translacyjnych (eIF3, eIF2) związanych z przerostem mięśnia sercowego.

Po zawale, w wyniku zwiększonej stymulacji układu współczulnego dochodzi do *regulacji w dół* receptorów β 1 oraz do zmniejszenia ich wrażliwości na działanie katecholamin, tłumaczone zwiększeniem aktywności hamującej podjednostki białka G- Gi. Proces *regulacji w dół* jest wypadkową zmniejszenia transkrypcji i zwiększenia degradacji receptora. Według jednej z teorii, desensytyzacja receptorów adrenergicznych jest mechanizmem adaptacyjnym, przeciwdziałającym rozwojowi niewydolności serca [6]. Według innej, jest to czynnik sprawczy rozwoju niewydolności serca zwią-

zanej z przerostem mięśnia [7]. Mechanizm ten miałby obejmować aktywację kinazy 1 receptora β -adrenergicznego (β ARK1) odpowiedzialnej za fosforylację receptora w miejscu połączenia z białkiem G, co blokuje przekazywanie sygnału [7].

Polimorfizmy genu receptora β 1-adrenergicznego

W literaturze opisywana jest zmienność genu receptora β 1 w pozycji 1165 regionu kodującego, co jest przyczyną polimorfizmu Arg/Gly w pozycji 389 łańcucha aminokwasowego. W badaniach eksperymentalnych na młodych myszach transgenicznym wariant



Rycina 1. Najważniejsze mechanizmy neurohormonalne związane z rozwojem niewydolności serca po zawale. Po zawale dochodzi do wzrostu poziomu amin katecholowych, angiotensyny II, cytokin zapalnych i endoteliny 1. Wszystkie te substancje działają za pośrednictwem receptorów błonowych kardiomiocytów. Receptory β 1 i β 2 są związane z białkiem Gs (β 2 również z Gi) i działają przez szlak cyklazy adenylanowej (CA). Z białkiem Gq i fosfolipazą C (PLC) są związane receptory α 1, AT1, ETA i ETB. Powyższe szlaki sygnalizacyjne prowadzą do aktywacji kaskad przekazywania sygnału wewnątrzkomórkowego i zmian ekspresji genów charakterystycznych dla niewydolności serca.

CA – cyklaza adenylanowa; cAMP – cykliczny adenozyńmonofosforan; PKA – kinaza białkowa A; ANG – angiotensyna; ACE – enzym konwertujący angiotensynę; AT1 – receptor angiotensyny typu 1; ETA – receptor angiotensyny typu A; ETB – receptor angiotensyny typu B; PLC – fosfolipaza C; IP3 – trójfosforan inozytolu; DAG – diacyloglicerol; PKC – kinaza białkowa C.

Arg389 warunkuje większą aktywność cykazy adenylanowej, a przez to również większą kurczliwość mięśnia sercowego niż Gly389 [8]. Między 3. a 6. mies. ich życia wrażliwość receptorów Arg389 zmniejszała się jednak o 30% i osiągała poziom niższy niż u Gly389. Korelowało to ze spadkiem aktywacji Gs i osłabioną odpowiedzią na dobutaminę. Podobnej tendencji nie obserwowano u osobników z allelem Gly389. W miocytach Arg389 obserwowano zmiany typowe dla rozwijającej się niewydolności: zwiększała się ekspresja genów łańcucha ciężkiego miozyny β , przedsiolkowego peptydu natriuretycznego (ANP), a malała ekspresja SERCA (ATP-azy wapniowej retikulum endoplazmatycznego) i łańcuchów ciężkich miozyny α . Zdegenerowane miocyty były zastępowane tkanką łączną. Z kolei osobniki Arg389 okazały się bardziej podatne na leczenie β -blokerem [8]. Następnym etapem badania była próba kliniczna u pacjentów z niewydolnością serca poddawanych terapii karwedilem. Homozygoty Arg389 wykazywały wzrost frakcji wyrzutowej średnio o 8,7%, heterozygoty o 7,2%, a homozygoty Gly389 jedynie 0,93% [8]. Wydaje się, iż allel Arg389 może predysponować do rozwoju niewydolności serca, z drugiej strony ten wariant receptora oznacza większe korzyści terapeutyczne związane ze stosowaniem β -blokerów. Jednak ostatnio opublikowana praca Covolo i wsp. nie potwierdziła związku pomiędzy polimorfizmem Arg389Gly a występowaniem niewydolności krążenia [9]. Do tego badania typu *case-control* włączano chorych niezależnie od etiologii, natomiast nie przeprowadzono dotychczas badań określających częstości polimorfizmu Arg/Gly389 w populacji wyłącznie z niedokrwinnym uszkodzeniem serca.

Inny polimorfizm genu receptora β 1 dotyczy kodonu 49 (Ser/Gly). W badaniach *in vitro* w komórkach z ekspresją allelu Gly49 obserwowano wyższą aktywność cykazy adenylanowej. Ten typ receptora miał większe powinowactwo do agonistów i antagonistów. Ponadto w większym stopniu ulegał *regulacji w dół* i desensytyzacji pod wpływem katecholamin [6]. Chociaż nie obserwowano różnicy w częstości występowania allelu Gly49 między pacjentami z niewydolnością serca a grupą kontrolną, to jednak allel Gly49 uważa się za *ochronny*, gdyż zauważono jego korzystny wpływ na przeżycie i częstość hospitalizacji pacjentów z niewydolnością serca. W ciągu 5-letniej obserwacji powikłania sercowo-naczyniowe wystąpiły u 62% pacjentów homozygot SerSer, podczas gdy tylko u 39% w grupie nosicieli allelu Gly [10]. Pozytywny wpływ allelu Gly49 na rokowanie w niewydolności serca miałyby potwierdzać tezę o korzystnym działaniu desensytyzacji receptorów na stan mięśnia sercowego przy wzmożonej stymulacji adrenergicznej [6].

Zmienność pozostałych receptorów układu adrenergicznego

W błonie presynaptycznej neuronów pozazwojowych znajduje się receptor α 2C-adrenergiczny. Na drodze sprzężenia zwrotnego hamuje on wydzielanie noradrenaliny. W wyniku delecji (Del322-325) powstaje receptor o osłabionej funkcji, predysponujący do wzrostu stymulacji adrenergicznej [11]. Dowiedziono, że mutacja genu receptora α 2C-adrenergicznego ma synergistyczne działanie z allelem Arg389 receptora β 1-adrenergicznego i razem zwiększają ryzyko wystąpienia niewydolności serca niezależnie od jej etiologii [11]. Dotyczy to głównie przedstawicieli rasy czarnej, ze względu na znacznie częstsze występowanie mutacji genu receptora α 2C w tej populacji.

Receptory β 2-adrenergiczne występują w sercu w znacznie mniejszej ilości. Oddziałują nie tylko z Gs, ale również mogą pobudzać Gi (podjednostkę hamującą) i brać udział w aktywacji kinazy tyrozynowej Src. Poprzez stymulację białka Gs dochodzi do zwiększonego działania inotropowego dodatniego, ale również nasilenia apoptozy. Z kolei aktywacja podjednostki Gi hamuje procesy apoptozy. Istnienie alternatywnych ścieżek przekazywania sygnału przez receptory β 2 może tłumaczyć, dlaczego zachowanie funkcji tych receptorów jest korzystne w przebiegu niewydolności serca. Wydaje się, że zdolność aktywacji każdego z dwóch przeciwstawnych szlaków może zależeć od stanu konformacyjnego receptora i obecności związków modyfikujących go. Przykładem substancji zwiększającej aktywację białka Gi przez receptory β 2 jest karwedilol, lek o udokumentowanej skuteczności w niewydolności krążenia [12].

Głównym przedmiotem badań w przypadku receptora β 2 jest polimorfizm kodonu 164. W populacji dominuje allel kodujący w tej pozycji treoninę – Thr. U około 4% badanych występuje mutacja powodująca zamianę na izoleucynę (Ile). Wiąże się to ze zmniejszeniem powinowactwa do agonistów i zmniejszeniem aktywacji cykazy adenylanowej o 50% z powodu upośledzonego wiązania się z Gs [13]. Nosiciele allelu Ile164 z niewydolnością serca mieli niższe roczne przeżycie niż homozygoty Thr (42% vs 76%) [14]. Do badania włączano zarówno chorych z idiopatyczną kardiomiopatią rozstrzeniową, jak i z kardiomiopatią niedokrwinną (44% badanej grupy).

Inne polimorfizmy genu receptora β 2 wykryto w kodonach 16 (Arg/Gly) i 27 (Gln/Glu). Allel 16Gly nasila *regulację w dół* i przypuszcza się, że może mieć niekorzystny wpływ na przebieg niewydolności serca. Natomiast mutacja Glu27 zapobiega zmniejszeniu liczby receptorów w warunkach wzmożonej stymulacji, co teoretycznie wydaje się być zjawiskiem korzystnym. Jednak badania kliniczne nie potwierdziły takiego związku

[9]. Nie zaobserwowano też zależności między wymienionymi genotypami a rokowaniem u pacjentów z niewydolnością serca [14].

Jednym z istotnych czynników prognostycznych w niewydolności serca jest tolerancja wysiłku, którą utożsamia się ze szczytowym wykorzystaniem tlenu (pVO₂) podczas testu wysiłkowego. Spadek pVO₂ koreluje z pogarszaniem się stanu klinicznego, ze skróceniem życia pacjentów oraz ze zmniejszeniem gęstości receptorów β_2 w sercu. Wykazano, iż allele związane z osłabieniem funkcji receptorowej: Ile164, Gly16 oraz kombinacja Gly16-Gln27, predysponują do gorszej tolerancji wysiłku u pacjentów z niewydolnością serca [15].

Układ renina-angiotensyna-aldosteron (RAA)

Kolejnym mechanizmem sprzyjającym rozwojowi niewydolności serca po zawale jest aktywacja układu RAA. Na mięsień sercowy ma wpływ ogólnoustrojowy i lokalny układ RAA. Angiotensyna II działa poprzez receptor AT1 związany z białkiem Gq i fosfolipazą C. Powoduje to nasilenie prądu wapniowego do wnętrza miocytów i wzrost kurczliwości serca, aktywuje czynniki transkrypcyjne i wzmacnia biosyntezę białka, prowadząc do przerostu mięśnia. Zwiększając sekrecję TGF- β , stymuluje proliferację fibroblastów oraz syntezę kolagenu. Pobudzenie receptorów AT1 może doprowadzić do apoptozy komórki [7]. Uważa się, że receptor AT2 ma działanie często przeciwstawne do AT1. W niewydolnym sercu receptory AT1 podlegają *regulacji w dół*, podczas gdy ekspresja AT2 rośnie. Pozasercowe funkcje angiotensyny II, istotne dla rozwoju HF, to wzrost uwalniania katecholamin, nasilenie aktywności układu sympatycznego, retencja sodu i wody oraz sekrecja aldosteronu.

W literaturze opisywane są polimorfizmy pojedynczego nukleotydu genu (SNP) angiotensynogenu: T174M i M235T (w zakresie regionu kodującego) oraz A (-20) C i G (-6) A (w obrębie promotora). Badanie przeprowadzono na grupie 10 000 pacjentów. Osobnicy 6AA, 174TT lub 235TT mieli istotnie wyższe stężenie angiotensynogenu w osoczu. W populacji kobiet różnica ta była większa i predysponowała do wyższych wartości ciśnienia tętniczego. Nie obserwowano jednak, aby allele te wywierały wpływ na ryzyko wystąpienia choroby niedokrwiennej serca [16]. Z drugiej strony, w badaniu oceniającym ryzyko rozwoju niewydolności serca stwierdzono większe zagrożenie kobiet o genotypie (-6) GG 235MT [17].

Duży wpływ na rozwój niewydolności serca może mieć zmienność genu enzymu konwertującego angiotensynę (ACE). Opisywany jest polimorfizm delecja/insercja (D/I) w obrębie intronu genu ACE. Genotyp DD wiąże się z wyższym stężeniem ACE w surowicy i wyższą jego aktywnością w sercu [18]. Opublikowano prace

świadczące o tym, że predysponuje on do zawału serca i przerostu lewej komory [19]. Częstość występowania genotypu DD wśród pacjentów z kardiomiopatią niedokrwinną była o 68% wyższa niż w grupie kontrolnej [20]. Wykazano, że allele D wpływa niekorzystnie na frakcję wyrzutową i wskaźnik objętości późnoskurczowej w badaniu wentrykulograficznym przeprowadzonym 4–7 miesięcy po zawale [19]. W echo wykonanym 4 miesiące po zawale osobnicy DD lub ID mieli istotnie wyższe wskaźniki objętości późnoskurczowej i późnorozkurczowej niż osoby z genotypem II [21]. Z drugiej strony, pojawiło się doniesienie wiążące genotyp DD z niższą śmiertelnością chorych po zawale [18], co można tłumaczyć większymi korzyściami tych pacjentów z leczenia inhibitorami ACE i β -blokerami [22, 23].

Kolejnym ogniwem układu RAA są receptory angiotensyny II. Opisano polimorfizm A1166C receptora AT1. Wysunięto hipotezę o synergistycznym działaniu interakcji polimorfizmu I/D w genie ACE i A1166C w AT1. W grupie pacjentów z zawalem ściany przedniej serca genotyp DD CC/AC był związany z istotnie wyższymi: objętością późnorozkurczową i wskaźnikiem masy lewej komory [24]. Ta patologia może predestynować do rozwoju HF, jednak rola polimorfizmu receptora AT1 w rozwoju niewydolności serca wymaga jeszcze bezpośredniego potwierdzenia.

Istnieją nieliczne doniesienia na temat zmienności genu receptora AT2 czy też polimorfizmu genu syntazy aldosteronu. Nie badano ich związku z kardiomiopatią niedokrwinną.

ACE nie jest jedynym enzymem przekształcającym angiotensynę I w II. Szacuje się, że w sercu niemal w 85% proces ten jest uwarunkowany aktywnością innego enzymu – chymazy [25]. Chymaza (CMA) jest produkowana przez komórki tuczne serca. Jej gen charakteryzuje się polimorfizmem A/B. Jego rola w rozwoju niewydolności serca nie została jednak dotychczas zbadana. Natomiast osoby o genotypie AA mają większą masę lewej komory, co mogłoby sprzyjać rozwojowi HF [26].

Z układem RAA ściśle związany jest układ kinina-kalikreina-bradykinina. Bradykinina to 9-aminokwasowy peptyd działający za pośrednictwem receptorów BK-1 i BK-2. Silnie rozkurcza mięśnie gładkie, aktywuje syntazę tlenu azotu i szlak prostaglandyn. Enzymem odpowiedzialnym za jej degradację jest ACE. Równowaga między układem RAA i kinina-kalikreina-bradykinina to ważny czynnik zapewniający prawidłowe funkcjonowanie układu krwionośnego. Opisywana jest zmienność BK-1 (-699C/G) i BK-2 (± 9 delecja w eksonie 1). Badano związek tych polimorfizmów z występowaniem ostrych zespołów wieńcowych. Osoby obciążone nadciśnieniem, będące homozygotami GG lub +/+, miały wyższe ryzyko wystąpienia ostrych zespołów wieńcowych niż osoby o innych genotypach [27].

Zmienność genów peptydów natriuretycznych

Istotną rolę w przebiegu niewydolności serca odgrywają czynniki natriuretyczne. W odpowiedzi na wzrost ciśnienia w prawym przedsionku uwalniany jest prekursor przedsionkowego peptydu natriuretycznego (pre-ANP). Pod wpływem błonowej proteazy serynowej (koriny) jest przekształcany w formę aktywną (ANP), która działa poprzez receptor NPR-A. Efekty pobudzenia NPR-A to natriureza, diureza, rozszerzenie naczyń krwionośnych, antagonizacja układów RAA i współczulnego. Badano polimorfizm Scal genu ANP: tranzycja T2238→C prowadzi do utraty miejsca restrykcyjnego enzymu Scal. Wśród pacjentów z chorobą wieńcową genotyp TT był związany z częstszym występowaniem zawału serca i większą liczbą zmienionych miażdżycowo naczyń [28]. Badano również mutację w kodonie 341 NPR-A, powodującą podstawienie izoleucyny w miejsce metioniny w łańcuchu aminokwasowym (Met341Ile). Mutacja istotnie częściej występowała w grupie pacjentów z zawałem niż w grupie kontrolnej [29].

Czynnik natriuretyczny typu B (BNP) jest produkowany przez kardiomiocyty komór w postaci prekursora pre-BNP, z którego po odcięciu fragmentu N-końca powstaje forma aktywna. Poziom BNP jest istotnym parametrem diagnostycznym i rokowniczym w niewydolności serca. Nie stwierdzono związku między polimorfizmem C1563T genu BNP a rozwojem idiopatycznej kardiomiopatii rozstrzeniowej [30]. W obrębie genu receptora BNP (NPR-B) opisana jest zmienność w intronach 18 (insercja/delekcja 9 par zasad) i 11 (C2077T).

Kolejny z czynników natriuretycznych – typ C (CNP) jest uwalniany jako pre-CNP przez komórki śródbłonna i cięty przez furynę. Polimorfizm w obrębie regionu 3' nieulegającego translacji (G2628A) ma wpływ na występowanie nadciśnienia [31].

Nie ma badań klinicznych dotyczących wpływu polimorfizmu genów prekursorów peptydów natriuretycznych, receptorów czy peptydaz odpowiedzialnych za posttranslacyjną aktywację na rozwój kardiomiopatii niedokrwiennej.

Polimorfizmy genów związanych z odpowiedzią zapalną

U chorych z niewydolnym sercem rośnie stężenie cytokin prozapalnych (TNF- α , IL1 β , IL-6) w surowicy i ich ekspresja w sercu. Kluczową rolę w kaskadzie zapalnej odgrywa TNF- α , cytokina bezpośrednio uszkodzająca kardiomiocyty, nasilająca proces apoptozy oraz włóknienia. W obrębie promotora TNF- α występuje polimorfizm A1/A2 w pozycji 308. Allel A2 istotnie częściej

występował w grupie pacjentów z idiopatyczną kardiomiopatią rozstrzeniową niż w grupie kontrolnej [32]. Nie potwierdziły tego wyniki innego badania przeprowadzonego na populacji osób z zastoinową niewydolnością serca [33].

IL-6 to cytokina prozapalna, która pobudza wytwarzanie białek ostrej fazy, zwiększa przepuszczalność naczyń, stymuluje ekspresję cząstek adhezyjnych i jest często łączona z patologiami układu krążenia. Chorzy z HF i podwyższonym stężeniem IL-6 są obciążeni większym ryzykiem zgonu. Wykazano związek polimorfizmu -174G/C promotora IL-6 z ciśnieniem skurczowym i ryzykiem wystąpienia choroby niedokrwiennej serca [34].

Do stymulacji odpowiedzi zapalnej, remodelingu lewej komory i rozwoju niewydolności po zawale przyczynia się ekspresja czynnika chemotaktycznego dla monocytów (MCP-1). W zakresie genu MCP-1 występuje polimorfizm -2518G/A. Allel G był badany jako potencjalny czynnik ryzyka choroby niedokrwiennej serca. Zmiennością charakteryzuje się również receptor dla MCP-1 (CCR2). Pośrednicząc w chemotaksji leukocytów odgrywa istotną rolę w patogenezie choroby wieńcowej. Mutacja w kodonie 64 jego genu (V64I) predysponuje do zawału i rozwoju HF [35].

Kolejnym elementem w patogenezie niewydolności serca są procesy włóknienia, w których istotną rolę odgrywa TGF- β 1. Badano związek między obecnością wariantów Leu lub Pro w pozycji 10 łańcucha aminokwasowego TGF- β 1. Polimorfizm kodonu 10 ma wpływ na ekspresję cytokiny i jest związany z występowaniem końcowego stadium niewydolności serca u pacjentów z kardiomiopatią rozstrzeniową [36].

Na łącznotkankowy szkielet lewej komory istotny wpływ ma równowaga między enzymami degradującymi białka macierzy (metaloproteinazy MMP-2, MMP-3 i MMP-9) a ich tkankowymi inhibitorami (TIMPs). Obserwowano wyraźnie wyższe stężenie MMP-2 w osoczu i wyższy wskaźnik MMP2/TIMP-2 u pacjentów z HF niż w grupie kontrolnej, co dobrze korelowało z poziomem BNP [37]. Myszy pozbawione genu MMP-2 wykazywały lepsze przeżycie i mniej nasilone zjawisko przebudowy (*remodelingu*) po eksperymentalnym zawale serca [38]. W grupie chorych z HF badano polimorfizmy promotora genu MMP-2 -790T/G i -735C/T. Allel T w pozycji 790 oraz allel 735 C istotnie częściej występowały w populacji chorych niż w populacji kontrolnej, co świadczy o możliwym udziale tych alleli w rozwoju HF [39]. W innej pracy badano polimorfizm promotora MMP-3 (-1171 5A>6A) i promotora MMP-9 (-1562C/T). Allele -1562T oraz -1171 5A warunkują wyższą aktywność promotorów i wyższy poziom metaloproteinazy w surowicy. Allel -1562T był niezależnym czynnikiem ryzyka zgonu u pacjentów z niewydolnością serca. Natomiast homozygoty 5A/5A

w obrębie genu MMP-3 były bardziej zagrożone zgonem tylko wówczas, gdy niewydolność serca miała inną etiologię niż niedokrwienna [40].

Polimorfizmy innych genów, potencjalnie związane z rozwojem niewydolności serca

Istnieje szereg doniesień dotyczących związku między niewydolnością serca a polimorfizmem genu deaminazy-1 AMP (AMPD1). W wyniku nonsensownej mutacji C34T (Glu12Stop) produkt ekspresji genu jest pozbawiony aktywności enzymatycznej. W tych warunkach w mięśniu sercowym rośnie przemiana AMP w adenozyne, która uznawana jest za czynnik kardioprotekcyjny. Wykazano, że nosicielstwo mutacji genu trzykrotnie zmniejszało ryzyko zgonu u pacjentów z angiograficznie udokumentowaną CAD (n=367) w 3,5-letniej obserwacji [41]. W przypadku niewydolności serca o różnej etiologii, pacjenci niebędący nosicielami mutacji charakteryzowali się gorszym rokowaniem (OR=9,34) [42].

Wśród substancji łączonych z patogenezą niewydolności serca wymienia się również endotelinę-1. Ulega gwałtownej sekrecji w odpowiedzi na rozciąganie komórek mięśniowych. Wydzielana jest w postaci prekursora, przekształcanego do formy aktywnej najprawdopodobniej przez furynę. Endotelina-1 zwęża naczynia, zwiększając kurczliwość serca, działa mitogenicznie na fibroblasty oraz powoduje przerost kardiomiocytów. Działa poprzez receptory typu A i B związane z białkiem Gq i szlakiem PLC. Ich aktywacja prowadzi do uruchomienia płodowego programu genowego w kardiomiocytach. W obrębie eksonu 8 genu receptora typu A (ETA) występuje polimorfizm C/T. Homozygoty TT miały dwukrotnie wyższe ryzyko rozwoju idiopatycznej kardiomiopatii rozstrzeniowej (IDC) w porównaniu z osobami o innym genotypie [43]. Natomiast polimorfizm C/T w eksonie 6 wpływał istotnie na rokowanie IDC. Ryzyko powikłań nosicieli allelu T było ponad pięciokrotnie wyższe w stosunku do pozostałych badanych [44].

W regulacji całego układu krążenia znamioną rolę odgrywa tlenek azotu (NO), rozszerzający naczynia krwionośne, zmniejszający ekspresję cząstek adhezyjnych na komórkach śródbłonna, hamujący adhezję i agregację płytek. Jest on produkowany przez szereg syntaz, z których w warunkach podstawowych w sercu główną rolę odgrywa śródbłonkowa syntaza tlenu azotu (eNOS). Gen eNOS cechuje się polimorfizmem w kodonie 298 (Glu298Asp), opisywane jest również powtórzenie tandemowe w eksonie 4 (eNOS 4a/4b). Obserwowano, że allel Glu zmniejszał ryzyko zgonu lub potrzeby transplantacji serca u pacjentów z ciężką kardiomiopatią rozstrzeniową. Tendencja ta nie dotyczyła niewydolności serca w przebiegu choroby niedokrwiennej [45].

Kolejnym ogniwem przyczyniającym się do rozwoju niewydolności serca jest dysfunkcja białek kurczliwych i białek cytoszkieletu miocytu. Opisano szereg mutacji genów aktyny, miozyny, tityny, troponiny, desminy i dystrofiny. Większość publikacji dotyczy rodzinnych form kardiomiopatii wywołanych mutacjami o wysokim stopniu penetracji. Mutacje o niskim stopniu penetracji mogą się ujawniać w warunkach zwiększonego obciążenia. Mają na to wpływ czynniki środowiskowe i interakcje z innymi genami. Można podejrzewać, iż choroba niedokrwienna serca, a zwłaszcza zawał, jest czynnikiem predysponującym do rozwoju kardiomiopatii u osobników obciążonych mutacjami o niskim stopniu penetracji. Odpowiedź twierdzącą podsuwa interesujące badanie doświadczalne, w którym u myszy pozbawionych genu czynnika transkrypcyjnego STAT3 (*signal transducer and activator of transcription 3*) dochodziło do kardiomiopatii rozstrzeniowej w podeszłym wieku, ale podobny fenotyp obserwowano u tych zwierząt po zawale mięśnia sercowego [46]. Jednak w populacji ludzkiej takie badania dopiero rozpoczęto.

Farmakogenetyka niewydolności serca

Farmakogenetyka jest nauką zajmującą się wpływem czynników genetycznych na reakcję organizmu na lek. Dziedzina ta znajduje się w początkowym okresie rozwoju, jednak już teraz stwarza obiecujące perspektywy. Być może pozwoli ona na lepszy indywidualny dobór terapii dla poszczególnych pacjentów.

Polimorfizmy genów odgrywają istotną rolę w farmakoterapii układu RAA. Badano wpływ leczenia ACE-I na poziom aldosteronu w surowicy. Okazało się, że w grupie pacjentów, którzy mimo stosowania ACE-I wykazują podwyższony poziom aldosteronu, częstość występowania genotypu DD genu ACE była istotnie wyższa niż wśród osób, których poziom aldosteronu mieścił się w granicach normy [47]. Natomiast w badaniu CATS analizowano rozwój rozstrzeni lewej komory po zawale ściany przedniej mięśnia sercowego. Do wystąpienia patologii predysponował genotyp DD, choć jednocześnie ci sami pacjenci odnosili największe korzyści z terapii kaptoprilem [23].

Istnieje potencjalna farmakogenetyczna interakcja między polimorfizmem I/D genu ACE a stosowaniem β -blokerów. W jednym z badań genotyp DD wiązał się z wyższym ryzykiem zgonu czy transplantacji serca w rocznej obserwacji pacjentów z HF, ale tylko w grupie nieotrzymującej β -blokerów [22].

Ostatnie prace wskazują na wysoką skuteczność kombinacji izosorbidu i hydralazyny u pacjentów rasy czarnej [48], przy opisanej wcześniej słabszej odpowiedzi tej grupy etnicznej na inhibitory konwertazy [49]. Potwierdza to odmienną odpowiedź pacjentów na zastosowane leczenie, prawdopodobnie z uwagi na różni-

ce w garniturze genowym i uwydatnia konieczność prowadzenia badań oceniających skuteczność różnych form leczenia w zależności od genotypu pacjenta.

Można podejrzewać, że genetyczne podłoże może mieć również występowanie działań niepożądanych leków. Przy badaniach polimorfizmu (-58T/C) promotora genu receptora B2 bradykininy wykazano, iż allel T jest związany z występowaniem kaszlu po ACE-I [50].

Podsumowanie

Szacuje się, że na układ krążenia mają wpływ tysiące genów. Schorzenia serca rozwijają się pod wpływem

uwarunkowań środowiskowych i genetycznych podlegających złożonym wzajemnym interakcjom. Ponadto dziedziczenie chorób serca ma w większości przypadków charakter wielogenowy, więc pojedyncze allele genów jedynie predysponują do ujawnienia się choroby, czemu sprzyjają niekorzystne czynniki związane ze stanem ustroju. Jednym z nich jest choroba niedokrwienna serca. W jej przebiegu dochodzi do degeneracji części kardiomiocytów i patologicznego przeciążenia pozostałych.

Badania genetyczne pozwalają na dokładniejsze poznanie patofizjologii chorób. W przypadku pacjentów z zawałem mogą pomóc wyodrębnić grupę osób obciąż-

Tabela I. Polimorfizmy genów potencjalnie związane z niewydolnością serca (HF) w przebiegu choroby wieńcowej (CAD)

gen	polimorfizm	efekt fizjologiczny	związek z niewydolnością serca w chorobie wieńcowej	piśmiennictwo
ACE	insercja/ delecja (I/D)	Genotyp DD - wyższe stężenie ACE w surowicy i jego aktywność w sercu	genotyp DD - o 68% częstsze występowanie wśród pacjentów z kardiomiopatią niedokrwienną niż w grupie kontrolnej allel D – predysponuje do upośledzenia funkcji lewej komory po zawale	18, 20, 21
angiotensynogen	M235T G(-6)A T174M	genotypy -6AA, 174TT, 235TT – wyższe stężenie angiotensynogenu w osoczu	genotypy (-6GG) i 235MT predysponują kobiety do HF	16, 17
receptor β 1	Arg389Gly	allel Arg389 – nasilony proces regulacji w dół receptora	allel Arg389 – związek z występowaniem HF i z lepszym efektem stosowania β -blokerów	8, 9
	Ser49Gly	allel Gly49 – wyższe powinowactwo do agonistów i antagonistów, nasilony proces regulacji w dół	allel Gly49 – korzystny wpływ na przeżycie i częstość hospitalizacji pacjentów z HF	6, 10
receptor β 2	Thr164Ile	allel Ile 164 – spadek powinowactwa do agonistów	allel Ile164 – niższe roczne przeżycie chorych z HF	13, 14, 15
	Arg16Gly	allel Gly16 – nasilenie regulacji w dół	allel 16Gly – przypuszczalnie wywiera niekorzystny wpływ na przebieg HF	9, 14, 15
	Gln27Glu	allel Glu27 – zmniejsza regulację w dół w warunkach wzmożonej stymulacji	allel Glu27 – przypuszczalnie ma korzystny wpływ na przebieg HF	9, 14
Receptor α 2C	Del322-325	osłabienie funkcji receptora, wzrost stymulacji adrenergicznej	wzrost ryzyka HF	11
Receptor CCR2 (dla MCP-1)	V64I	efekt fizjologiczny – nieznan	allel I – predysponuje do zawału i HF	35
AMPD-1	C34T	allel T – wzrost przemiany AMP w adenozyne – czynnik kardioprotekcyjny	allel T – lepsze rokowanie u chorych z CAD i HF	41, 42
MMP-2	-790T/G -735C/T	efekt fizjologiczny – nie jest opisywany	allele -790T i -735C częściej występowały u chorych z HF w porównaniu z grupą kontrolną	39
MMP-3	-1171 5A>6A	allel 5A – wyższa aktywność promotora, wyższy poziom MMP-3 w surowicy	genotyp 5A/5A – istotnie statystycznie gorsze rokowanie u chorych z HF o etiologii innej niż niedokrwienna	40
MMP-9	-1562C>T	allel aktywność – wyższa aktywność promotora, wyższy poziom MMP-9 w surowicy	allel T – niezależny czynnik ryzyka zgonu chorych z HF	40

żonych największym ryzykiem rozwoju niewydolności serca. Takich pacjentów można poddać odpowiednio zmodyfikowanej i zintensyfikowanej terapii. Interesujące możliwości daje farmakogenetyka. Istnieją pierwsze doniesienia o genetycznie uwarunkowanej odpowiedzi na leki. Różnicowanie osobnicze dotyczy zarówno efektu terapeutycznego, jak i działań niepożądanych.

Poznanie genetycznych uwarunkowań niewydolności serca ma wymiar naukowy i praktyczny, stwarza nowe możliwości rozwoju i jest wielkim wyzwaniem medycyny XXI w.

Spis skrótów użytych w tekście

HF – niewydolność serca
 CAD – choroba wieńcowa
 IHD – choroba niedokrwienna serca
 IDC – idiopatyczna kardiomiopatia rozstrzeniowa
 SNS – współczulny układ nerwowy
 RAA – układ renina-angiotensyna-aldosteron
 ADH – hormon antydiuretyczny
 CHF – niewydolność krążenia
 PLC – fosfolipaza C
 β ARK1 – kinaza-1 receptora β -adrenergicznego
 SERCA – ATP-aza wapniowa retikulum endoplazmatycznego
 pVO₂ – szczytowe wykorzystanie tlenu
 SNP – polimorfizm pojedynczego nukleotydu
 ACE – enzym konwertujący angiotensynę
 Pre-ANP – prekursor przedsionkowego czynnika natriuretycznego
 ANP – przedsionkowy czynnik natriuretyczny
 BNP – czynnik natriuretyczny typu B
 MCP-1 – czynnik chemotaktyczny monocytów 1
 MMP – metaloproteinaza macierzy
 TIMP – tkankowy inhibitor metaloproteinazy
 AMID-1 – deaminaza-1 AMP
 eNOS – śródbłonkowa synteza tlenu azotu

Piśmiennictwo

- Remme WJ, Swedberg K. Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure, European Society of Cardiology. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure. *Eur Heart J* 2001; 22: 1527-60.
- Rywik SL, Wagrowska H, Broda G, et al. Heart failure in patients seeking medical help at outpatients clinics. Part I. General characteristics. *Eur J Heart Fail* 2000; 2: 413-21.
- Ho KK, Pinsky JL, Kannel WB, et al. The epidemiology of heart failure: the Framingham Study. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22: 6A-13A.
- Scott DS, Sutton MJ, Lamas GA, et al. Ventricular remodeling does not accompany the development of heart failure in diabetic patients after myocardial infarction. *Circulation* 2002; 106: 1251-5.
- Ho KK, Pinsky JL, Kannel WB, et al. The epidemiology of heart failure: the Framingham Study. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22: 6A-13A.
- Levin MC, Marullo S, Muntaner O, et al. The myocardium-protective Gly-49 variant of the beta1-adrenergic receptor exhibits constitutive activity and increased desensitization and down-regulation. *J Biol Chem* 2002; 277: 30429-35.
- Lips DJ, deWindt LJ, van Kraaij DJ, et al. Molecular determinants of myocardial hypertrophy and failure: alternative pathways for beneficial and maladaptive hypertrophy. *Eur Heart J* 2003; 24: 883-96.
- Mialet Perez J, Rathz DA, Petrashevskaya NN, et al. Beta1-adrenergic receptor polymorphisms confer differential function and predisposition to heart failure. *Nat Med* 2003; 9: 1300-5.
- Covolo L, Gelatti U, Metra M, et al. Role of beta1- and beta2-adrenoceptor polymorphisms in heart failure: a case-control study. *Eur Heart J* 2004; 25: 1534-41.
- Borjesson M, Magnusson Y, Hjalmarson A, et al. A novel polymorphism in the gene coding for the beta (1) -adrenergic receptor associated with survival in patients with heart failure. *Eur Heart J* 2000; 21: 1853-8.
- Small KM, Wagoner LE, Levin AM, et al. Synergistic polymorphisms of beta1- and alpha2C-adrenergic receptors and the risk of congestive heart failure. *N Engl J Med* 2002; 347: 1135-42.
- Harding SE, Gong H. Beta-adrenoceptor blockers as agonists: coupling of beta2-adrenoceptors to multiple G-proteins in the failing human heart. *Congest Heart Fail* 2004; 10: 181-5.
- Brodde OE, Buscher R, Tellkamp R, et al. Blunted cardiac responses to receptor activation in subjects with Thr164Ile beta2-adrenoceptors. *Circulation* 2001; 103: 1048-50.
- Liggett SB, Wagoner LE, Craft LL, et al. The Ile164 beta2-adrenergic receptor polymorphism adversely affects the outcome of congestive heart failure. *J Clin Invest* 1998; 102: 1534-9.
- Wagoner LE, Craft LL, Singh B, et al. Polymorphisms of the beta (2) -adrenergic receptor determine exercise capacity in patients with heart failure. *Circ Res* 2000; 86: 834-40.
- Sethi AA, Nordestgaard BG, Gronholdt ML, et al. Angiotensinogen single nucleotide polymorphisms, elevated blood pressure, and risk of cardiovascular disease. *Hypertension* 2003; 41: 1202-11.
- Goldbergova M, Spinarova L, Spinar J, et al. Association of two angiotensinogen gene polymorphisms, M235T and G (-6) A, with chronic heart failure. *Int J Cardiol* 2003; 89: 267-72.
- Tokunaga S, Tsuji H, Nishiue T, et al. Lower mortality in patients with the DD genotype of the angiotensin-converting enzyme gene after acute myocardial infarction. *Acta Cardiol* 2001; 56: 351-5.
- Ohmichi N, Iwai N, Nakamura Y, et al. The genotype of the angiotensin-converting enzyme gene and global left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1995; 76: 326-9.
- Raynolds MV, Bristow MR, Bush EW, et al. Angiotensin-converting enzyme DD genotype in patients with ischaemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet* 1993; 342: 1073-5.
- Ohmichi N, Iwai N, Maeda K, et al. Genetic basis of left ventricular remodeling after myocardial infarction. *Int J Cardiol* 1996; 53: 265-72.
- McNamara DM, Holubkov R, Janosko K, et al. Pharmacogenetic interactions between beta-blocker therapy and the angiotensin-converting enzyme deletion polymorphism in patients with congestive heart failure. *Circulation* 2001; 103: 1644-8.
- Pinto YM, van Gilst WH, Kingma JH, et al. Deletion-type allele of the angiotensin-converting enzyme gene is associated with progressive ventricular dilation after anterior myocardial infarction. Captopril and Thrombolysis Study Investigators. *J Am Coll Cardiol* 1995; 25: 1622-6.
- Gruchala M, Cieciewicz D, Ochman K, et al. Left ventricular size, mass and function in relation to angiotensin-converting enzyme gene and angiotensin-II type 1 receptor gene

- polymorphisms in patients with coronary artery disease. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41: 522-8.
25. Urata H, Ganten D. Cardiac angiotensin II formation: the angiotensin-I converting enzyme and human chymase. *Eur Heart J* 1993; 14 (Suppl. I): 177-82.
26. Gumprecht J, Zychma M, Grzeszczak W, et al. Angiotensin I-converting enzyme and chymase gene polymorphisms – relationship to left ventricular mass in type 2 diabetes patients. *Med Sci Monit* 2002; 8: CR603-6.
27. Dhamrait SS, Payne JR, Li P, et al. Variation in bradykinin receptor genes increases the cardiovascular risk associated with hypertension. *Eur Heart J* 2003; 24: 1672-80.
28. Gruchala M, Cieciewicz D, Wasag B, et al. Association of the Scal atrial natriuretic peptide gene polymorphism with nonfatal myocardial infarction and extent of coronary artery disease. *Am Heart J* 2003; 145: 125-31.
29. Nakayama T, Soma M, Saito S, et al. Missense mutation of exon 3 in the type A human natriuretic peptide receptor gene is associated with myocardial infarction. *Med Sci Monit* 2003; 9: CR505-10.
30. Tiret L, Mallet C, Poirier O, et al. Lack of association between polymorphisms of eight candidate genes and idiopathic dilated cardiomyopathy: the CARDIGENE study. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 29-35.
31. Ono K, Mannami T, Baba S, et al. A single-nucleotide polymorphism in C-type natriuretic peptide gene may be associated with hypertension. *Hypertens Res* 2002; 25: 727-30.
32. Ito M, Takahashi H, Fuse K, et al. Polymorphisms of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 genes in Japanese patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Jpn Heart J* 2000; 41: 183-91.
33. Kubota T, McNamara DM, Wang JJ, et al. Effects of tumor necrosis factor gene polymorphisms on patients with congestive heart failure. VEST Investigators for TNF Genotype Analysis. Vesnarinone Survival Trial. *Circulation* 1998; 97: 2499-501.
34. Humphries SE, Luong LA, Ogg MS, et al. The interleukin-6 -174 G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men. *Eur Heart J* 2001; 22: 2243-52.
35. Ortlepp JR, Vesper K, Mevissen V, et al. Chemokine receptor (CCR2) genotype is associated with myocardial infarction and heart failure in patients under 65 years of age. *J Mol Med* 2003; 81: 363-7.
36. Holweg CT, Baan CC, Niesters HG, et al. TGF-beta1 gene polymorphisms in patients with end-stage heart failure. *J Heart Lung Transplant* 2001; 20: 979-84.
37. Yamazaki T, Lee JD, Shimizu H, et al. Circulating matrix metalloproteinase-2 is elevated in patients with congestive heart failure. *Eur J Heart Fail* 2004; 6: 41-5.
38. Hayashidani S, Tsutsui H, Ikeuchi M, et al. Targeted deletion of MMP-2 attenuates early LV rupture and late remodeling after experimental myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: H1229-35.
39. Vasku A, Goldbergova M, Holla LI, et al. Two MMP-2 promoter polymorphisms (-790T/G and -735C/T) in chronic heart failure. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41: 1299-303.
40. Mizon-Gerard F, de Groote P, Lamblin N, et al. Prognostic impact of matrix metalloproteinase gene polymorphisms in patients with heart failure according to the aetiology of left ventricular systolic dysfunction. *Eur Heart J* 2004; 25: 688-93.
41. Anderson JL, Habashi J, Carlquist JF, et al. A common variant of the AMPD1 gene predicts improved cardiovascular survival in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 1248-52.
42. Gastmann A, Sigusch HH, Henke A, et al. Role of adenosine monophosphate deaminase-1 gene polymorphism in patients with congestive heart failure (influence on tumor necrosis factor-alpha level and outcome). *Am J Cardiol* 2004; 93: 1260-4.
43. Charron P, Tesson F, Poirier O, et al. Identification of a genetic risk factor for idiopathic dilated cardiomyopathy. Involvement of a polymorphism in the endothelin receptor type A gene. CARDIGENE group. *Eur Heart J* 1999; 20: 1587-91.
44. Herrmann S, Schmidt-Petersen K, Pfeifer J, et al. A polymorphism in the endothelin-A receptor gene predicts survival in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J* 2001; 22: 1948-53.
45. McNamara DM, Holubkov R, Postava L, et al. Effect of the Asp298 variant of endothelial nitric oxide synthase on survival for patients with congestive heart failure. *Circulation* 2003; 107: 1598-602.
46. Hilfiker-Kleiner D, Hilfiker A, Fuchs M, et al. Signal transducer and activator of transcription 3 is required for myocardial capillary growth, control of interstitial matrix deposition, and heart protection from ischemic injury. *Circ Res* 2004; 95: 187-95.
47. Cicoira M, Zanolla L, Rossi A, et al. Failure of aldosterone suppression despite angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor administration in chronic heart failure is associated with ACE DD genotype. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 1808-12.
48. Taylor AL, Ziesche S, Yancy C, et al. Combination of isosorbide dinitrate and hydralazine in blacks with heart failure. *N Engl J Med* 2004; 351: 2049-57.
49. Bloche MG. Race-based therapeutics. *N Engl J Med* 2004; 351: 2035-7.
50. Mukae S, Aoki S, Itoh S, et al. Bradykinin B (2) receptor gene polymorphism is associated with angiotensin-converting enzyme inhibitor-related cough. *Hypertension* 2000; 36: 127-31.