

Received: 2007.03.26
Accepted: 2007.11.21
Published: 2007.12.27

Rola polimorfizmu -344 C/T genu syntazy aldosteronu (CYP11B2) w chorobach układu krążenia

The role of the -344C/T polymorphism of the aldosterone synthase gene (*CYP11B2*) in cardiovascular diseases

Andrzej Boduła¹, Andrzej Dołyk¹, Joanna Protasiewicz¹, Rajmund Adamiec^{1,2}

¹ Klinika Angiologii, Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii Akademii Medycznej we Wrocławiu
² Instytut Edukacji Medycznej Kolegium Karkonoskiego w Jeleniej Górze

Streszczenie

Rola aldosteronu w regulacji gospodarki wodno-elektrolitowej, a w konsekwencji również ciśnienia tętniczego jest od dawna ustalona. W ostatnich latach zwrócono uwagę na udział tego hormonu w rozwoju powikłań sercowo-naczyniowych, takich jak przerost i włóknienie mięśnia sercowego, przebudowa ścian naczyń, a także związek z rozwojem miażdżycy. Szczególne znaczenie w wytwarzaniu aldosteronu ma enzym - syntaza aldosteronu, który katalizuje trzy ostatnie reakcje syntezy tego hormonu. W wielu pracach wykazano, że warianty genu syntazy aldosteronowej (*CYP11B2*), a zwłaszcza polimorfizm -344 C/T mają związek z chorobami układu krążenia. Niniejsza praca jest krótkim przeglądem badań oceniających wpływ polimorfizmu -344 C/T genu syntazy aldosteronowej na rozwój chorób układu krążenia, a zwłaszcza na aterosclerozę. W artykule zawarto ponadto podstawowe informacje o molekularnych podstawach regulacji wytwarzania aldosteronu, jego działaniu i znaczeniu w przewlekłej niewydolności serca.

Słowa kluczowe:

syntaza aldosteronu • polimorfizm -344C/T • CYP11B2 • aldosteron • miażdżycza zarostowa • ateroscleroza • układ renina - angiotensyna - aldosteron

Summary

Aldosterone plays an important role in the regulation of electrolyte and water homeostasis and in blood pressure maintenance. The latest studies have revealed involvement of this hormone in the development of myocardium hypertrophy and fibrosis, with heart failure progression, vessel remodeling, and atherosclerosis. The crucial enzyme in aldosterone production is aldosterone synthase, which catalyses the last three steps of its synthesis. It was reported in many studies that polymorphisms of the gene encoding aldosterone synthase, *CYP11B2*, especially the -344C/T polymorphism, are associated with cardiovascular diseases. This article is a short review of research on the role of the *CYP11B2*-344C/T polymorphism in hypertension, heart muscle remodeling, and especially in atherosclerosis. Information about the molecular basis of aldosterone's synthesis, action, and significance, especially in heart failure, is also provided.

Key words:

aldosterone synthase • CYP11B2 • -344 C/T polymorphism • aldosterone • arteriosclerosis obliterans • atherosclerosis • renin-angiotensin-aldosterone system



Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_61/11526.pdf
Word count:	4453
Tables:	–
Figures:	4
References:	59

Adres autora: lek. Andrzej Boduła, Klinika Angiologii, Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii AM, ul. Borowska 213, 50-556 Wrocław; e-mail: bodula@mp.pl

Układ hormonalny renina – angiotensyna – aldosteron (RAA) jest jednym z najważniejszych układów kontrolujących gospodarkę wodną i elektrolitową organizmu oraz ciśnienie tętnicze krwi. Jego znaczenie potwierdza to, że dysfunkcja poszczególnych składowych układu skutkuje poważnymi zaburzeniami funkcjonowania ustroju, a preparaty farmakologiczne kontrolujące ten układ stały się cennymi lekami szeroko stosowanymi we współczesnej medycynie.

ALDOSTERON A HOMEOSTAZA USTROJU

Aldosteron jest hormonem syntetyzowanym w warstwie kłębkowatej kory nadnerczy, którego wydzielanie jest pobudzane przede wszystkim przez angiotensynę II (ang.II) w układzie RAA oraz przez wzrost kalciemii. ACTH, β -endorfina, endotelina i wazopresyna również wykazują stymulujący wpływ na syntezę tego hormonu, jednak ich działanie ma charakter drugorzędowy, a pobudzające działanie ACTH jest przejściowe. Z kolei syntezę tego hormonu hamują: przedsionkowy peptyd natriuretyczny (ANP), dopamina, somatostatyna i tlenek azotu (ryc. 1).

Aldosteron działa przez swoisty receptor umiejscowiony w kanalikach dalszych nefronu, powodując nasilony wychwyt kationów sodowych oraz wtórnie wody z moczem pierwotnego, a także zwiększone wydalanie kationów potasu i wodoru. Przewlekły hiperaldosteronizm prowadzi zatem do hipokaliemii oraz hipernatremii i hiperwolemii, a tym samym jest odpowiedzialny za indukcję nadciśnienia tętniczego. Receptory aldosteronu znajdują się również w mózgu, ścianie naczyń krwionośnych i w sercu, przez co hormon ten sprzyja przerosłowi i przebudowie ścian naczyń i serca; upośledza również funkcję śródbłonna. Podejrzewa się, że dyskretne zaburzenia osi RAA są jednym z czynników składających się na powstanie tzw. nadciśnienia pierwotnego.

MOLEKULARNE PODSTAWY REGULACJI WYTWARZANIA ALDOSTERONU

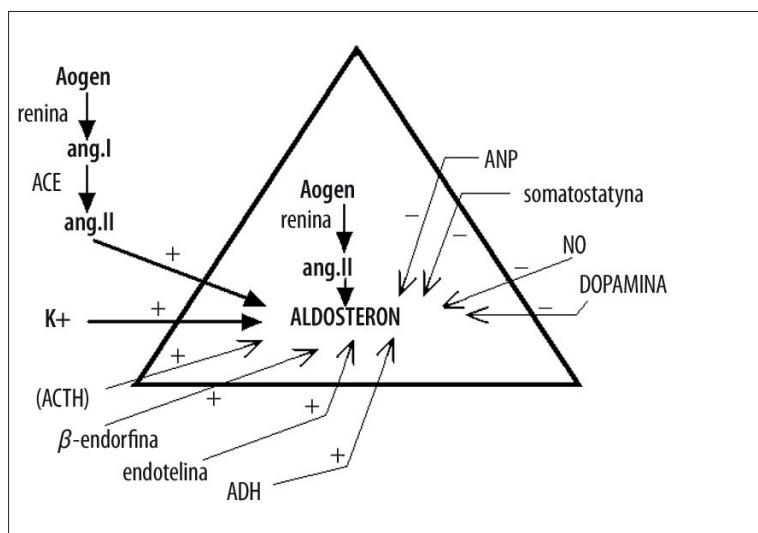
Aldosteron jest syntetyzowany w mitochondriach i retikulum endoplazmatycznym z cholesterolu w następstwie wielu powiązanych ze sobą reakcji katalizowanych przez różne enzymy (ryc. 2).

Ostatnie trzy etapy syntezy stanowi 11β -hydroksylacja 11β -deoksokortykosteronu do kortykosteronu, a następnie jego 18 -hydroksylacja i 18 -oksydacja (hydroksylacja i oksydacja reszty przy atomie węgla 18) do ostatecznego hormonu. Powyższe reakcje są kontrolowane przez jeden enzym zwany **syntazą aldosteronu (P450aldo)**; jest on głównym enzymem regulującym wytwarzanie aldosteronu, stymulowane przez angiotensynę II (ang.II) i potas według dwóch modeli: szybkiego (ostrego) i długofalowe-

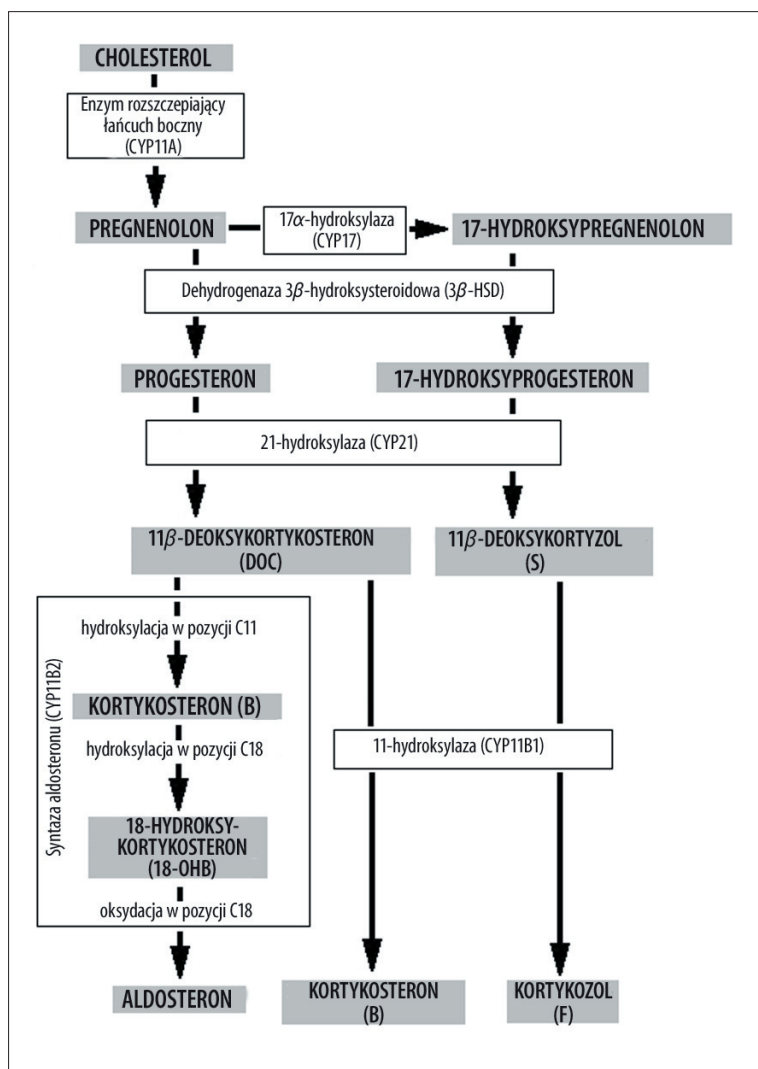
go [7,48]. Pierwszy z nich, zachodzący w ciągu kilku minut, polega na przesunięciu cholesterolu do wewnętrznej błony mitochondrialnej, gdzie ulega pierwszej przemianie katalizowanej przez enzym P450sc (P450 side-chain cleavage enzyme) do pregnenolonu, co powoduje nasilenie steroidogenezy; regulacja prawdopodobnie polega w tym wypadku na zwiększaniu ilości substratu. Za powyższy proces odpowiadają białka StAR (steroidogenic acute regulatory protein). Natomiast istotą przewlekłego pobudzenia syntezy aldosteronu jest wzrost ekspresji genu syntazy aldosteronu.

Molekularny mechanizm działania regulatorów tych przemian nie został jeszcze dokładnie opisany. Działanie potasu wiąże się z bezpośrednią depolaryzacją błony komórkowej i otwarciem kanałów wapniowych L i T bramkowanych potencjałem, co powoduje napływ wapnia do komórki [2], z następnym zaangażowaniem kalmoduliny i kinaz od niej zależnych [8,35]. Potas zmieniając potencjał błonowy moduluje wrażliwość kanałów wapniowych typu T, dzięki czemu są bardziej podatne na działanie wtórnych przekazników aktywowanych przez pobudzony receptor angiotensynowy i w tym upatruje się mechanizm synergizmu K^+ i ang.II. Wiadomo, że ang.II wpływa na metabolizm głównie poprzez swój receptor typu I (AT1R), który jest białkiem przezbłonowym związanym z białkiem G [27]. Białko to jest wtórnym przekazańnikiem związanym także z innymi receptorami metabotropowymi i jest zbudowane z 3 podjednostek (α , β , γ). Podjednostka α zawiera cząsteczkę guanidynodifosforanu (GDP). W chwili pobudzenia receptora dochodzi do zmiany konfiguracji związanego z nim białka G, które odłącza GDP, przyłączając w to miejsce cząsteczkę guanidynotrifosforanu (GTP), po czym dochodzi do oddzielenia się podjednostki α od pozostałych, które pozostają przy receptorze. Zaktywowana podjednostka α pobudza enzymy będące kolejnymi przekazańnikami sygnału z pobudzonego receptora. Następnie dochodzi do autodefosforylacji GTP podjednostki α , co powoduje jej deaktywację i ponowne przyłączenie do podjednostek β i γ . Rola białek G polega nie tylko na przewodzeniu pobudzenia z receptora, ale także na wzmocnieniu sygnału – pojedynczy receptor pobudzony przez ligand może aktywować setki cząsteczek związanego z nim białka G. Rodzaj enzymów pobudzanych przez aktywowane białka G zależy głównie od rodzaju podjednostki α . Stwierdzono, że z AT₁R jest związane głównie z podjednostką α_1 , która aktywuje fosfolipazę C_β (PLC), katalizującą rozpad difosforanu fosfatydyloinozytolu do trifosforanu inozytolu (IP₃) i diacyloglicerolu (DAG) (ryc. 3).

Kolejne etapy kaskady wtórnych przekazańników są związane z pobudzeniem kinazy białkowej typu C (PKC) i otwarciem kanałów Ca^{2+} , co powoduje wzrost stężenia wewnątrzkomórkowego wapnia [27,54]. Z badań Touyza i Berry'ego



Ryc. 1. Schemat endokrynej i parakrynej regulacji wytwarzania aldosteronu. Po stronie lewej umieszczono związki stymulujące, a po prawej hamujące syntezę aldosteronu. Nawias symbolizuje przejściowy efekt stymulujący ACTH; aogen – angiotensynogen [wg 27, za zgodą]

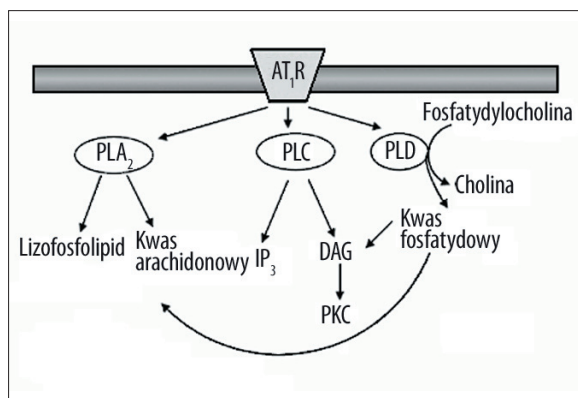


Ryc. 2. Schemat wytwarzania hormonów kory nadnerczy [wg 9, za zgodą]

[54] wynika, że aktywowane są również inne typy fosfolipaz: D i A₂. PLD katalizuje hydrolizę fosfatydocholi-ny z powstaniem cząsteczki kwasu fosfatydowego, który

jest następnie hydrolizowany przez fosfohydrolazę kwa-su fosfatydowego do diacyloglicerolu z następowym po-budzeniem PKC. Z kolei PLA₂ uwalnia cząsteczki kwasu





Ryc. 3. Fosfolipazy szlaku pobudzenia receptora angiotensyny II i ich wtórne przekaźniki. AT₁R – receptor angiotensyny typu 1, PLA₂ – fosfolipaza A₂, PLC – fosfolipaza C, PLD – fosfolipaza D, IP₃ – trifosforan inozytoli, DAG – diacyloglicerol, PKC – kinaza białkowa typu C [wg 54; zmodyfikowano]

arachidonowego z fosfolipidów błony komórkowej, który staje się substratem do powstania silnych biologicznie związków: prostaglandyn, tromboksanów, leukotrienów. Opisano także pobudzenie przez ang. II w komórkach warstwy kłębuszkowej kinaz białkowych aktywowanych przez mitogeny (MAPK – mitogen activated protein kinases) [46]. Szlak ten jest również aktywowany przez adrenomodulinę [43].

Wyniki ostatnich badań ukazują wpływ na wydzielanie aldosteronu, zarówno pobudzający, jak i hamujący licznych czynników wzrostu i cytokin działających głównie w systemie auto- i parakrynnym: bFGF, IGF, TGFβ1 [13]. Ważną rolę w tym układzie pełni również tkankowy układ renina – angiotensyna [40].

W rejonie promotorowym genu *CYP11B2* odkryto fragmenty odpowiedzialne za wzrost transkrypcji pod wpływem układu przekaźników z udziałem cAMP, który jest zasadniczym, wtórnym przekaźnikiem sygnalizacji ACTH – CRE (cAMP response element) m.in. w pozycji -71/-64, który jest niezbędny do ekspresji *CYP11B2* nie tylko pod wpływem ścieżki z udziałem AMP, ale również stymulowanej przez ang. II i potas (ryc. 4). Powyższy mechanizm wyjaśnia niewielki wzrost wytwarzania aldosteronu, towarzyszący przewlekłej stymulacji tym hormonem, choć pełne wyjaśnienie roli cAMP w ekspresji genu wymaga dalszych badań [7].

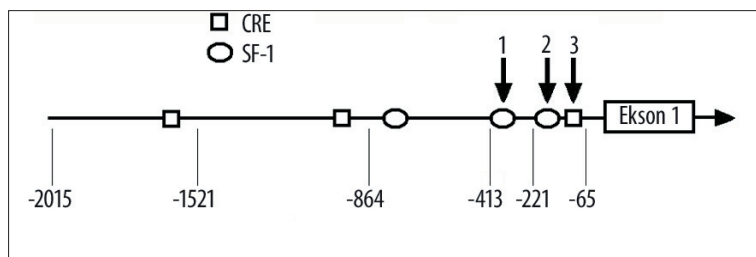
Za jeden z ważniejszych stymulatorów ekspresji genu syntazy aldosteronu uważa się czynnik steroidogenezy 1, zwany również sierocym receptorem jądrowym (orphan nuclear receptor steroidogenic factor-1 (SF-1)). Wpływ SF-1 na ekspresję genu syntazy aldosteronu nie jest do końca poznany, choć większość autorów sugeruje jego pozytywny wpływ i podkreśla pośredniczącą rolę tego czynnika w działaniu ang. II i K⁺ [7]. Prace Bassetta i wsp. [3] kwestionują rolę SF-1 w stymulacji ekspresji *CYP11B2* – w ich opinii jest on jedynym genem enzymu zaangażowanego w steroidogenezę, który do swej pełnej ekspresji nie wymaga obecności SF-1. Inni badacze [25] wprowadzili również poddając w wątpliwość rolę pośredniczenia SF-1 w efektach ang. II i K⁺, jednak potwierdzają jego pobudzający wpływ na eks-

presję *CYP11B2* oraz innych genów enzymów zaangażowanych w steroidogenezę. SF-1 oprócz działania na *CYP11B2* kontroluje również ekspresję wspomnianych wcześniej białek StAR, odpowiedzialnych za przemieszczanie cholesterolu do błony wewnętrznej mitochondriów, a więc za ostrą regulację syntezy aldosteronu [47].

Gen syntazy aldosteronu (*CYP11B2*) u człowieka znajduje się na ramieniu długim chromosomu 8 (8q22). Składa się z 9 eksonów i 8 intronów, liczy ponad 8000 par zasad [30]. Fragment promotorowy reaguje zmianami ekspresji na sygnały będące następstwem działania ang. II. Do niedawna uważano, że ekspresja *CYP11B2* zachodzi przede wszystkim w warstwie kłębkowej kory nadnerczy, jednak badania przeprowadzone w ciągu ostatnich lat dowiodły obecności ekspresji genu syntazy aldosteronu również w mięśniu sercowym [17,21,19,41,51,58,59], a także w endotelium i komórkach mięśni gładkich naczyń [49,50]. Mineralokortykosteroidy wytwarzane pozanadnerczowo nie mają znaczenia w uzupełnianiu poziomu aldosteronu krążącego, a – jak się podejrzewa – spełniają jedynie auto- i parakrynną rolę regulacyjną w narządach wykazujących zdolność do ich wytwarzania [45]. W komórkach osiągają bowiem stężenia nawet 17-krotnie wyższe niż poziom aldosteronu nadnerczowego w surowicy krwi [44].

EKSPRESJA *CYP11B2* MIOCARDIUM A MORFOLOGIA I FUNKCJA SERCA

Najlepiej poznano ekspresję *CYP11B2* w mięśniu sercowym. Satoh i wsp. [41] oznaczyli poziom ekspresji syntazy aldosteronu w biopsjach wsierdzia i mięśnia sercowego pobranych od 23 pacjentów cierpiących na przewlekłą niewydolność serca i od 10 zdrowych ochotników. Stwierdzono wielokrotnie wyższy poziom ekspresji *CYP11B2* w tkance mięśnia sercowego u chorych probantów (1,60 vs 0,05; $p < 0,05$), przy czym obserwowano wyraźnie wyższy poziom ekspresji w podgrupie zaawansowanej niewydolności serca, rozpoznawaną przy wartości frakcji wyrzutowej (LVEF) poniżej 30%, lub wymiaru późnorozkurczowego lewej komory (LVESD) przekraczającego 55 mm. Wielkość ekspresji pozostawała w dodatniej korelacji z nasileniem procesu włóknienia, który określano zawartością kolagenu w mięśniu sercowym (CVF – collagen volume fraction). Zauważono ponadto wyraźnie niższy poziom zarówno ekspresji *CYP11B2*, jak i CVF u pacjentów leczonych spironolaktonem i inhibitorami konwertazy angiotensynowej w porównaniu z osobami nieprzyjmującymi tych leków (odpowiednio 0,17 vs 2,58 dla ekspresji i 2,8 vs 9,0 dla CVF). Autorzy sformułowali wniosek, że zwiększone stężenie aldosteronu może być odpowiedzialne za włóknienie mięśnia sercowego i jego remodeling, które to zmiany są obserwowane w przewlekłej niewydolności krążenia. Podobnie zaprojektowane badanie przeprowadził w tym samym roku zespół Michihiro Yoshimury uzyskując zbieżne wyniki – ekspresja *CYP11B2* w niewydolnym mięśniu sercowym okazała się 6 razy większa, niż w próbkach pobranych od zdrowych osób. Potwierdza to wyniki uzyskane wcześniej przez Mizuno i wsp. [29] technikami niemolekularnymi, którzy przez pomiar m.in. poziomu aldosteronu w żyłce wieńcowej międzykomorowej przedniej, zatoce żyłnej i opuszce aorty wykazali wyższe jego stężenie w żyłkach wieńcowych, niż w aorcie u chorych z przewlekłą niewydolnością krążenia. Stanowiło to przekon-



Ryc. 4. Fragment regionu promotorowego genu *CYP11B2*. Strzałką nr 1 wskazano miejsce Ad4 (-351/-343), wiążącego SF-1, będącego obszarem polimorfizmu -344 C/T. Strzałka numer 2 wskazuje miejsce wiązania SF-1 krytyczne dla ekspresji genu (-129/-114), strzałka nr 3 lokalizuje drugie istotne miejsce niezbędne do ekspresji *CYP11B2*, wiążące białka szlaku cAMP. SF-1 – steroidogenic factor-1, CRE – cAMP response element [wg 7, za zgodą]

jący dowód wytwarzania aldosteronu przez tkanki serca. Różnice były proporcjonalne do zaawansowania schorzenia, pozostawały w pozytywnej korelacji do późnorozkurczowego ciśnienia w lewej komorze (LVEDP) i negatywnej do frakcji wyrzutowej (LVEF). Nie zanotowano istotnych statystycznie analogicznych różnic aldosteronemii u zdrowych ochotników.

O istotnym wpływie aldosteronu na przeżywalność chorych z niewydolnością serca świadczą wyniki dwóch dużych badań klinicznych: RALES i EPHEUS. W badaniu RALES (The Randomized Aldactone Evaluation Study) [53] u chorych z niewydolnością krążenia spowodowaną zarówno skutkami niedokrwienia, jak i innymi przyczynami do standardowego leczenia (inhibitory ACE, diuretyki pętlowe, w niektórych przypadkach również beta-blokery i glikozydy naparstnicy) dodano spironolakton w dawkach 12,5–75 mg/dobę. W przebiegu testu stwierdzono, że spironolakton w średniej dawce dobowej 26 mg obniżał ryzyko zgonu o dowolnej przyczynie o 30%, w tym z powodu postępu przewlekłej niewydolności serca o 36%. Z kolei ryzyko zgonu w przebiegu nagłego zatrzymania krążenia uległo redukcji o 29%. Zaobserwowano spadek liczby hospitalizacji z powodu przewlekłej niewydolności serca o 35%. Badanie EPHEUS (Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study) [37,36] przeprowadzono na grupie ponad 6600 pacjentów ze stwierdzoną przewlekłą niewydolnością serca rozwiniętą jako powikłanie ostrego incydentu wieńcowego, którzy do standardowej terapii otrzymywali nowej generacji bloker receptora aldosteronu (eplerenon) w rosnącej dawce 25–50 mg/dobę pod kontrolą placebo. Po 16 miesiącach obserwacji stwierdzono w grupie pacjentów przyjmujących eplerenon w średniej dawce 43 mg/dobę spadek ogólnej śmiertelności o 15%, a umieralności z przyczyn sercowo-naczyniowych o 17%. Zmniejszenie liczby zgonów z powodu nagłego zatrzymania krążenia oszacowano na 21%. Obliczono również, że spadek liczby hospitalizacji z powodu niewydolności krążenia wynosił 23%, a ryzyko konieczności takich hospitalizacji zmniejszyło się o 15%. Wyniki badań potwierdziły dużą, choć nie do końca wyjaśnioną rolę aldosteronu w patogenezie niewydolności serca oraz skuteczność terapii lekami blokującymi jego receptor.

EKSPRESJA *CYP11B2* W NACZYNIACH KRWIONOŚNYCH

Ekspresję *CYP11B2* w ścianie tętnic po raz pierwszy opisał Hatakeyama [14] w 1994 r. oraz Takeda [50] w 1995 r., którzy wykorzystali model izolowanych komórek śródbłonna i mięśni gładkich tętnicy krezkowej szczura (Takeda) oraz tętnicy płucnej człowieka (Hatakeyama). W tych badaniach wykryto również ekspresję receptora mineralokor-

tykoidowego typu 1 – głównie w komórkach mięśni gładkich. Stwierdzono, że ekspresja genu syntazy aldosteronu podlega podobnej regulacji, jak w nadnerczach, tzn. jest stymulowana przez ang.II oraz kationy potasu. Pod wpływem stymulacji przez ang.II następowało również nasilenie wbudowywania znakowanej trytem leucyny przez hodowcę mięśnie gładkie; efekt był wzmacniany przez ekspozycję komórek na aldosteron, a osłabiany przez antagonistę receptora mineralokortykosteroidowego – ZK 91587 i spironolakton w stopniu zależnym od dawki. Autorzy tłumaczą stymulujące działanie aldosteronu na działanie ang.II przez zwiększanie liczby receptorów angiotensyny za pośrednictwem receptora mineralokortykoidowego oraz zapobieganie ich desensytyzacji. Stanowi to ponadto przekonujący dowód na istnienie w ścianie naczyń lokalnego układu RAS, wywołującego analogiczne efekty, jak jego krążące składowe.

POLIMORFIZM -344 C/T I JEGO ZNACZENIE DLA SYNTEZY ALDOSTERONU

Spośród wielu polimorfizmów genu syntazy aldosteronu szczególnie wiele badań poświęcono transwersji nukleotydu cytozynowego na tyminowy w pozycji -344, znajdującej się w odcinku promotorowym *CYP11B2*, która jest jedną z częściej występujących zmian sekwencji DNA tego genu [9]. Rejon obejmujący ten nukleotyd (tzw. Ad4 [3]) jest uważany za jeden z kilku punktów uchwytu białka regulatorowego SF-1, o którym wspomniano wcześniej. Stwierdzono, że wariant -344C wykazuje około 4-krotnie większe powinowactwo do SF-1, niż -344T [56]. Niemniej jednak Clyne w oparciu o badania eksperymentalne wskazuje na inne miejsce wiążące SF-1 (-129/-114) – Ad5. Stwierdził bowiem, że związanie SF-1 z powyższym miejscem jest niezbędne do transkrypcji *CYP11B2*, zarówno podstawowej, jak i stymulowanej przez ATII i K^+ , czego nie wykazano dla okolicy zawierającej nukleotyd -344 (-351/-343) [7] (ryc. 4).

W związku z powyższym Paillard [32] zasugerował, że mutacja C → T nukleotydu -344 osłabiając zdolność wiązania SF-1, zwiększa dostępność tego czynnika regulacji transkrypcji *CYP11B2*, a przez to zwiększa jego wiązanie z miejscem -129/-114, niezbędnym do transkrypcji genu syntazy aldosteronu. Rozważa się również zmianę wrażliwości na ang.II polimorficznego *CYP11B2*, co mogłoby być spowodowane zaburzeniami interakcji z innymi, hipotetycznymi czynnikami transkrypcyjnymi [10]. Z całą pewnością jako polimorfizm obejmujący region promotorowy nie ma wpływu na budowę ostatecznego produktu, jakim jest syntaza aldosteronowa, jednak nadal – w sposób do końca

niewyjaśniony, wpływa na ekspresję genu, co ostatecznie przekłada się na globalny efekt działania enzymu.

WPLYW POLIMORFIZMU -344 C/T NA NADCIŚNIENIE TĘTNICZE

Pionierskie badania w zakresie wpływu polimorfizmu – 344C/T genu syntazy aldosteronu na nadciśnienie tętnicze przeprowadził w 1998 roku zespół Evy Brand [5]. Porównano częstość występowania alleli -344C i T u 380 pacjentów z rodzin obciążonych nadciśnieniem tętniczym i u 293 zdrowych osób rasy białej. Otrzymany wynik wskazywał na wyraźną korelację allelu T z występowaniem schorzenia (0,56 w grupie chorych vs 0,48 w grupie kontrolnej). Szczególnie często allel T występował w podgrupie chorych z wczesnym (poniżej 45 r.ż.) wystąpieniem nadciśnienia tętniczego (0,576 vs 0,488). Podobne wyniki otrzymali również Davies i wsp. [10], stwierdzając wyraźnie częstsze występowanie allelu T w grupie z nadciśnieniem względem zdrowych ochotników w stosunku 0,60 do 0,53 (P=0,009). Wśród chorych z nadciśnieniem częściej występował genotyp TT, niż „wild type” – CC – 0,27 vs 0,08. Stwierdzono ponadto związek wariantu -344T z poziomem wytwarzania aldosteronu mierzonym ilością jego metabolitu (tetrahydroaldosteronu) w moczu – u nosicieli allelu T poziom THA był wyższy, niż dla wariantu C (13,8 vs 8,7 nmol/d P=0,024). Homozygoty TT i heterozygoty (TC) wykazywały większe stężenie THA, niż homozygoty CC (odpowiednio 12,4 vs 14,6 vs 8,8; P=0,05). Wyniki te są zgodne z otrzymanymi przez zespół Hautanenego [15], który opisał wyższy poziom aldosteronu w moczu u probantów z genotypem -344TT. W kolejnych latach Paillard i wsp. [32] potwierdzili związek polimorfizmu -344 T z wyższym poziomem aldosteronu w surowicy, przy czym najwyższe wartości cechowały osoby heterozygotyczne, a najmniejsze homozygoty CC, podobnie jak w badaniu Davies. Nie znaleziono jednak istotnej statystycznie korelacji pomiędzy różnymi wariantami *CYP11B2* a wartościami ciśnienia tętniczego. Komiyama i wsp. [23] w badaniu przeprowadzonym u chorujących na nadciśnienie tętnicze i zdrowych ochotników populacji japońskiej opisali związek rzadszego występowania allelu -344C w nadciśnieniu z niskim stężeniem reniny (low-renin hypertension) w porównaniu z chorymi z prawidłowym lub wysokim stężeniem tego hormonu. Podobnie Lim i wsp. [26] stwierdzili znacząco częstsze występowanie allelu T u chorych z nadciśnieniem tętniczym związanym z wysokim wskaźnikiem aldosteronu do reniny (ARR – aldosterone to renin ratio) oraz z następującą względną hiperaldosteronią.

Nie wszyscy autorzy są jednak zgodni co do związku allelu -344T genu *CYP11B2* z nadciśnieniem i względnym hiperaldosteronizmem. Pojoga i wsp. [38] wprawdzie stwierdzili zależność między występowaniem allelu C i genotypu CC z podwyższonymi wartościami aldosteronu (TT: 90; TC: 110; CC: 129 pg/ml), jednak nie potwierdzili wpływu polimorfizmu genu syntazy aldosteronu na średnie wartości ciśnienia tętniczego. Z kolei Tsujita i wsp. [55] na podstawie badania przeprowadzonego wśród ludności japońskiej (Suita Study) na próbie liczącej ok. 4000 osób (1535 z grupy nadciśnienia i 2514 z grupy kontrolnej) nie stwierdzili różnic w częstości występowania poszczególnych alleli -344 w obu grupach. Nie wykazano również istotnych różnic wartości ciśnienia skurczowego, rozkurczowego i tętna w zależności od określonego genotypu (CC, CT, TT).

Różnie tłumaczy się rozbieżność wyników powyższych badań i związków alleli C lub T z nadciśnieniem tętniczym. Rozważa się wpływ zawartości sodu i potasu w diecie, co jest zróżnicowane w poszczególnych regionach świata, obecnością związku polimorfizmu -344C/T z innymi, niewykrytymi jeszcze mutacjami o większym wpływie na wartości aldosteronu i ciśnienia tętniczego [52].

Wśród różnych czynników utrudniających kontrolę nadciśnienia tętniczego wymienia się sodowrażliwość (salt-sensitivity), czyli skłonność do reakcji zwiększonymi ciśnieniem tętniczego na wysoką zawartość sodu w diecie. Stwierdzono, że dla tego stanu charakterystyczny jest brak nocnego spadku wartości ciśnienia tętniczego [18]. Zwraca się również uwagę na częste współistnienie wzmoczonej impulsacji współczulnej, co dodatkowo nasila przebieg choroby nadciśnieniowej i zwiększa ryzyko wystąpienia powikłań [12]. W Ohasama Study Matsubara z zespołem [28] przeprowadzili badania populacji japońskiej, pomiędzy nosicielami wariantów genu *CYP11B2*–344CC, CT i TT nie wykazali wyraźnych różnic w średnich wartościach ciśnienia tętniczego ustalonych w 24-godzinnym pomiarze holterowskim. Stwierdzono natomiast wyraźnie większy spadek średnich nocnych wartości ciśnienia tętniczego u osób z genotypem CC, co wskazywało na częstsze występowanie allelu T wśród osób niewykazujących wyraźnego spadku nocnych wartości ciśnienia (tzw. non-dippers). U tych osób stwierdzono również częstsze występowanie chorób układu sercowo-naczyniowego, mimo zbliżonej częstości występowania typowych czynników ryzyka. Na podstawie tego badania oraz wspomnianego wcześniej Suita Study [55] stwierdzono częstsze występowanie allelu T w populacji japońskiej oraz jego korelację ze stanem „non-dipper” [20]. W badaniach przeprowadzonych u rasy białej nie znaleziono takiego związku. W Berlin Salt-Sensitivity Trial (BeSST) [6] analizowano genotyp 163 normotensyjnych osób w zależności od ich wywiadu rodzinnego w kierunku nadciśnienia tętniczego, poziomu składowych układu RAA oraz odpowiedzi wzrostem wartości ciśnienia na bogato- i ubogosolną dietę. O ile częstość występowania allelu T była nieco większa w grupie osób z rodzinnym obciążeniem choroby, to rozkład alleli był nieistotny statystycznie w grupach wyłonionych ze względu na wrażliwość na poziom sodu w diecie. W obu grupach wykazano dodatnią zależność podwyższonego poziomu angiotensynogenu z allelem T, nie znajdując takiej korelacji dla aktywności reninowej osocza i poziomu aldosteronu. Podobnie w analizie przeprowadzonej u 68 polskich pacjentów z nadciśnieniem tętniczym nie wykazano związku genotypu -344C/T ze stanem wzmoczonej odpowiedzi presyjnej na sól. Nie znaleziono również związku dystrybucji alleli z aktywnością reninową osocza tych osób, poziomem aldosteronu, filtracją kłębuszkową (GFR) i wydalaniem sodu z moczem [57].

WPLYW POLIMORFIZMU -344 C/T NA PRZEBUDOWĘ MIĘŚNIA SERCOWEGO

Aldosteron tak w sposób bezpośredni, jak i pośredni poprzez regulację objętości wewnątrznaczyniowej wpływa na strukturę lewej komory serca. Wyniki badań próbujących powiązać polimorfizm genu *CYP11B2* z masą lewej komory lub jej parametrami strukturalnymi są niejednoznaczne. Kupari i wsp. [24] u osób po wcześniejszym wykluczeniu

chorób układu sercowo-naczyniowego wykazali związek wzrostu liczby alleli C regionu -344 C/T z masą lewej komory oraz jej wymiarami końcowoskurczowym i końcoworozkurczowym. Całkowicie odmienne wyniki uzyskał zespół Schunkerta [42] stwierdzając brak jakiegokolwiek związku pomiędzy polimorfizmem genu syntazy aldosteronu a indeksem masy lewej komory, czy jej parametrami morfotycznymi niezależnie od wartości ciśnienia tętniczego. Delles i wsp. [11] donoszą o braku korelacji pomiędzy rodzajem alleli regionu -344 C/T a masą lewej komory, jednocześnie wskazując na istnienie zależności polimorfizmu z wymiarem końcowoskurczowym i końcoworozkurczowym u osób z nadciśnieniem. Powyższe rozbieżności próbuje się tłumaczyć różnicami populacyjnymi poddanych badaniom, niemniej należy brać również pod uwagę przypadkowość otrzymanych zależności.

ALDOSTERON A ROZWÓJ MIAŻDŻYCY

Od pewnego czasu postuluje się udział aldosteronu w patogenezie miażdżycy, chociaż mechanizm ciągle nie został poznany. Wskazuje się na prooksydacyjne właściwości hormonu, jako ewentualny udział w progresji aterosogenezy, co sugerują wyniki kilku przeprowadzonych dotychczas badań. Keidar i wsp. [22] u myszy predysponowanych do rozwoju miażdżycy i charakteryzujących się podwyższonym „stressem” oksydacyjnym (EO mice – mysz nokautowana względem genu apolipoproteiny E) podawali aldosteron i placebo przez zaimplantowane podskórnie minipompy. U części myszy otrzymujących hormon zastosowano również w diecie eplerenon, ramipryl albo losartan. Po zakończeniu badania stwierdzono (poza spodziewanym wzrostem ciśnienia tętniczego z 101/76 mm Hg w grupie placebo do 110/80 w grupie otrzymującej aldosteron) wzrost o 32% obszaru aorty zajętego przez zmiany miażdżycowe (z 16002 do 21407 μm^2 ; $P < 0,05$). Ponadto wykazano istotny statystycznie wzrost parametrów oksydacji zarówno w makrofagach izolowanych z otrzewnej, jak i w ścianie aorty. Nasilenie zdolności makrofagów do oksydacji LDL obliczono na 35%. Ponadto stwierdzono wzrost aktywności makrofagowej oksydazy NADPH, co wiązało się z ponad 3-krotnie większą translokacją do błony komórkowej jej cytosolowej składowej $p47^{\text{phox}}$. Podobnie w wycinkach ściany aorty myszy z grupy aldosteronu obserwowano wzrost wytwarzania jonów nadtlennokowych o 69%, a ich uwalnianie o 55%. Ponadto wykazano 2,3-krotne nasilenie ekspresji genu konwertazy angiotensynowej i jej aktywności w makrofagach. U zwierząt, którym podawano eplerenon, ramipryl, lub losartan zanotowano osłabienie prooksydacyjnego działania aldosteronu. Redukcję wytwarzania i uwalniania jonów nadtlennokowych do poziomu notowanego u zwierząt z grupy placebo stwierdzono u myszy, którym podawano kombinację eplerenonu z ramiprylem lub losartanem, zatem blokując działanie aldosteronu przekazywany zarówno przez jego receptor, jak i przez komponentę związaną ze stymulacją ACE. Reasumując, autorzy stwierdzają, że za aterosogenezę mogą odpowiadać prooksydacyjne właściwości aldosteronu oraz jego zdolność do podwyższenia ciśnienia tętniczego, a także stymulacja wytwarzania konwertazy angiotensynowej, głównie frakcji tkankowej.

Powyższe wyniki są zbieżne z nieco wcześniejszymi doświadczeniami Rajagopalana i wsp. [39]. U królików podzielonych na grupę karmioną dietą wysokocholesterolo-

wą i normalną podawano eplerenon pod kontrolą placebo w każdej z tych grup przez 8 tygodni. U zwierząt z grupy badanej stwierdzono 2,3-krotnie wyższy poziom generacji jonów nadtlennokowych w wycinkach aorty (3445 vs 1295 jednostek). Podanie leku blokującego receptor aldosteronu (eplerenon) królikom karmionym dietą cholesterolową obniżyło natężenie wytwarzania nadtlennoków do poziomu notowanego u zwierząt z grupy kontrolnej (1071 jednostek – grupa hiperlipemiczna z eplerenonem), w podobnym stopniu redukując aktywność oksydaz NADP i NADPH (odpowiednio z 0,31 i 0,27 w grupie hiperlipemicznej do 0,16 i 0,07 jednostek w grupie hiperlipemicznej z eplerenonem – wartości porównywalne z uzyskanymi dla grupy placebo). Eplerenon poprawiał również funkcję śródbłonna naczyniowego zaburzoną w modelu wczesnej miażdżycy, co było mierzone stopniem rozkurczowej odpowiedzi naczynia na acetylocholinę, wyraźnie większej w hiperlipemicznej grupie leczonej w porównaniu z grupą nieleczoną (87 vs 59%). Sprawdzono również wrażliwość naczyń z poszczególnych grup na środki obkurczające mięśnie gładkie – fenylefrynę i ang.II. O ile w przypadku pierwszego ze środków wazokonstrykcyjnych nie stwierdzono różnicy w reakcji skurczowej naczynia, to dla ang.II zanotowano istotnie większy skurcz naczynia w grupie zwierząt karmionych dietą lipidową w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi. Nie wykazano jednak zmniejszenia wrażliwości na ang.II pod wpływem leczenia eplerenonem. W podsumowaniu podkreślono udział aldosteronu w generowaniu stresu oksydacyjnego oraz wpływ na zaburzenia funkcji śródbłonna w procesie miażdżycowym, co było proporcjonalne do redukcji wytwarzania wolnych rodników pod wpływem blokady jego receptora ze współistniejącą poprawą relaksacji naczyń.

WPLYW POLIMORFIZMU -344 C/T NA ROZWÓJ MIAŻDŻYCY

Dotychczas opublikowano kilka prac oceniających wpływ polimorfizmu -344C/T genu syntazy aldosteronu na rozwój miażdżycy. Hautanen i wsp. [16] w próbie 141 pacjentów i 270 osób grupy kontrolnej stwierdzili istotny statystycznie wzrost ryzyka sercowo-naczyniowego u pacjentów z allelem -344C syntazy aldosteronu. Wykazano co prawda nieznaczący wzrost ryzyka zawału serca u nosicieli powyższego allelu, jednak rosło ono bardzo wyraźnie w zestawieniu z innymi, klasycznymi czynnikami ryzyka choroby wieńcowej, takimi jak palenie tytoniu i zaburzenia lipidowe. O ile palenie zwiększało 2,5-krotnie ryzyko wystąpienia zawału w całej badanej populacji, to u osób, u których stwierdzono genotyp -344CC wzrastało 4,67-krotnie w porównaniu z niepalącymi nosicielami tego genotypu, a w analogicznym porównaniu dla genotypu TT wynosiło 1,09 wartości obliczonych dla osób niepalących z tym układem alleli. Podobną tendencję zaobserwowano dla kombinacji polimorfizmu *CYP11B2* i obniżonego stężenia cholesterolu HDL. Nie znaleziono związku dla czynników ryzyka, takich jak wysokie skurczowe ciśnienie tętnicze i wysoki poziom frakcji LDL cholesterolu. Balkestein i wsp. [1] opublikowali wyniki badania korelacji polimorfizmu -344C/T genu *CYP11B2* z grubością kompleksu intima-media (IMT) tętnic szyjnych i udowych, jako czynnika prognostycznego rozwoju miażdżycy. Ponadto oceniano warianty innych genów: kodującego enzym konwertujący angiotensynę (ACE I/D) oraz białka cytoskieletu alfa-adducyny (Gly460Trp). Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w grubo-



ści IMT tętnic szyjnych, natomiast wykazano wyraźnie większą jego grubość w tętnicach udowych, skorelowaną z obecnością allelu D genu ACE, lecz jedynie w sytuacji, gdy wariant ten był skojarzony ze współwystępowaniem odmiany -344T i/lub 460Trp. I tak w porównaniu z nosicielami genotypu II genu ACE grubość IMT dla genotypu DD wynosiła 13,4% u wszystkich badanych, w obecności allelu 460Trp wzrastała do 21,2%, w obecności -344T – 15,4%, a dla homozygot DD, będących nosicielami zarówno 460Trp, jak i -344T grubość IMT była wyższa o 25,2% (wartości podano jako odsetek średniej grubości IMT dla całej badanej populacji). Z kolei Benetos i wsp. [4] w próbie 349 mężczyzn ocenili wpływ polimorfizmu -344CC na zaawansowanie wykładników starzenia: grubość blaszek miażdżycowych w tętnicach szyjnych i długość telomerów w chromosomach leukocytów. Stwierdzono, że obecność allelu C była związana zarówno ze skróceniem telomerów (8,53 dla genotypu TT vs 8,26 dla TC vs 8,17 dla CC) oraz większym rozwojem zmian miażdżycowych (23% dla TT vs 41% dla TC vs 38% dla CC), przy czym powyższy związek wykazano jedynie dla pacjentów z nadciśnieniem tętniczym. U nosicieli TT z wysokim ciśnieniem stopień rozwoju miażdżycy był porównywalny z osobami normotensyjnymi grupy kontrolnej.

Przynajmniej trzech autorów, na podstawie przeprowadzonych badań, zakwestionowało rolę omawianego polimorfizmu w rozwoju miażdżycy. Zespół Patela [33] przebadali genotyp 542 chorych po epizodzie ostrego zawału mięśnia sercowego oraz 500 ochotników bez choroby wieńcowej w wywiadzie. Autorzy nie wykazali istotnych statystycznie różnic w rozkładzie poszczególnych genotypów oraz alleli w obu populacjach. Nie stwierdzono związku genotypu CC z ryzykiem zawału mięśnia sercowego, rozważanego zarówno jako pojedyncza cecha, jak i w skojarzeniu z klasycznymi czynnikami ryzyka. Nie wykazano również związku poszczególnych wariantów z wiekiem wystąpienia ostrego epizodu wieńcowego. Podobne wnioski wyciągnęli badacze w oparciu o dane z wieloletniego, prospektywnego badania Second Northwick Park Heart Study (NPHSII) [34], przeprowadzonego na dużej grupie niespokrewnionych, pierwotnie zdrowych białych mężczyzn w średnim wieku. Obserwowano 2490 pacjentów, u których zanotowano łącznie 187 epizodów wieńcowych rozumianych jako nagła śmierć sercowa, zawał serca, lub konieczność wykonania procedury rewaskularyzacyjnej. W całej populacji nie stwierdzono związku ryzyka wystąpienia powyższych zdarzeń wieńcowych z żadnym z genotypów – obliczona wartość ryzyka względnego wyniosła dla TT 1,00, dla TC 1,25 i dla CC 0,80 ($P=0,07$). Oceniając ewen-

tualną współzależność w generowaniu ryzyka wieńcowego z innymi czynnikami, autorzy nie ustalili żadnej korelacji z wartościami ciśnienia tętniczego. Z kolei Ortlepp i wsp. [31] wykazali brak wpływu polimorfizmu -344C/T na postępowanie zmian miażdżycowych w prześłach żylnych wszczepionych w zabiegu CABG.

W rodzimym ośrodku podjęto program badań, którego celem jest próba ustalenia związku polimorfizmu -344C/T genu syntazy aldosteronu z dynamicznym rozwojem miażdżycy u ludzi młodych, jego korelację z cukrzycą – istotnym zaburzeniem nasilającym aterosclerogenezę oraz ewentualny wpływ powszechnie stosowanych preparatów (pentoksifylina i sulodeksyd) na przebieg choroby. Do udziału w badaniu zakwalifikowano chorych na miażdżycę zarostową, z których część stanowić będą pacjenci chorujący jednocześnie na cukrzycę typu 2 oraz osoby zdrowe stanowiące grupę kontrolną. Poza polimorfizmem -344C/T i ekspresją *CYP11B2* w monocytach krwi obwodowej zaplanowano również przeprowadzenie badań w kierunku oceny aktywności układu renina–angiotensyna–aldosteron łącznie z powszechnie znanymi czynnikami ryzyka miażdżycy, wykładnikami prozakrzepowymi i proagregacyjnymi (PAF, TAFI, PECAM na powierzchni płytek, liczbę kompleksów monocytarno-płytkowych we krwi obwodowej), potencjałem oksydoredukcyjnym (aktywność dysmutazy nadtlenkowej (SOD) w neutrofilach), funkcją śródbłonna naczyńniowego (poziom czynnika von Willebranda, selektyna E). Zaplanowano również ocenę stopnia uszkodzenia nefronu (mikroalbuminuria, klirens kreatyniny, poziom kolagenu IV i aktywność S-transferazy glutationu w moczu). Ocena nasilenia miażdżycy zostanie przeprowadzona w oparciu o ultrasonograficzny pomiar grubości IMT, a także przez oznaczenie dystansu chromania na bieżni ruchomej, pomiar wskaźnika kostka–ramię oraz badanie reoangiograficzne podudzi wykonane przed i po próbie na bieżni. Do oceny ekspresji *CYP11B2* wybrano monocyty krwi obwodowej ze względu na ich ustaloną rolę w inicjacji i progresji blaszki miażdżycowej (komórki piankowe). Z programu terapii tej grupy chorych wyłączono leki z grupy blokerów receptora aldosteronu, inhibitorów ACE oraz blokerów AT₁.

Autorzy programu oczekują danych, które w pewnej mierze pozwolą wyjaśnić niektóre mechanizmy rozwoju miażdżycy i stworzą płaszczyznę optymalizacji terapii tej choroby cywilizacyjnej. Niemniej jednak do pełnego wyjaśnienia wszystkich czynników patogenetycznych leżących u podłoża miażdżycy niezbędne są dalsze, wielośrodkowe badania z zaangażowaniem wielu sił i środków.

PIŚMIENICTWO

- [1] Balkestein E.J., Wang J.G., Struijker-Boudier H.A., Barlassina C., Bianchi G., Birkenhager W.H., Brand E., Den Hond E., Fagard R., Herrmann S.M., Van Bortel L.M., Staessen J.A.: Carotid and femoral intima-media thickness in relation to three candidate genes in a Caucasian population. *J. Hypertens.*, 2002; 20: 1551–1561
- [2] Barrett P.Q., Isales C.M., Bollag W.B., McCarthy R.T.: Ca²⁺ channels and aldosterone secretion: modulation by K⁺ and atrial natriuretic peptide. *Am. J. Physiol.*, 1991; 261: F706–F719
- [3] Bassett M.H., Zhang Y., Clyne C., White P.C., Rainey W.E.: Differential regulation of aldosterone synthase and 11 β -hydroxylase transcription by steroidogenic factor-1. *J. Mol. Endocrinol.*, 2002; 28: 125–135
- [4] Benetos A., Gardner J.P., Zureik M., Bean K., Aviv A.: Aldosterone synthase (*CYP11B2*) -344C/T polymorphism is associated with short telomeres and carotid artery plaques. *Am. J. Hypertens.*, 2003; 16: A78
- [5] Brand E., Chatelain N., Mulatero P., Fery I., Curnow K., Jeunemaitre X., Corvol P., Pascoe L., Soubrier F.: Structural analysis and evaluation of the aldosterone synthase gene in hypertension. *Hypertension*, 1998; 32: 198–204
- [6] Brand E., Schorr U., Ringel J., Beige J., Distler A., Sharma A.M.: Aldosterone synthase gene (*CYP11B2*) C-344T polymorphism in Caucasians from the Berlin Salt-Sensitivity Trial (BeSST). *J. Hypertens.*, 1999; 17: 1563–1567

- [7] Clyne C.D., Zhang Y., Slutsker L., Mathis J.M., White P.C., Rainey W.E.: Angiotensin II and potassium regulate human *CYP11B2* transcription through common cis-elements. *Mol. Endocrinol.*, 1997; 11: 638–649
- [8] Condon J.C., Pezzi V., Drummond B.M., Su Yin, Rainey W.E.: Calmodulin-dependent kinase I regulates adrenal cell expression of aldosterone synthase. *Endocrinology*, 2002; 143: 3651–3657
- [9] Connell J.M.C., Fraser R., MacKenzie S.M., Friel E.C., Ingram M.C., Holloway C.D., Davies E.: The impact of polymorphisms in the gene encoding aldosterone synthase (*CYP11B2*) on steroid synthesis and blood pressure regulation. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2004; 217: 243–247
- [10] Davies E., Holloway C.D., Ingram M.C., Inglis G.C., Friel E.C., Morrison C., Anderson N.H., Fraser R., Connell J.M.: Aldosterone excretion rate and blood pressure in essential hypertension are related to polymorphic differences in the aldosterone synthase gene *CYP11B2*. *Hypertension*, 1999; 33: 703–707
- [11] Delles C., Erdmann J., Jacobi J., Hilgers K.F., Fleck E., Regitz-Zagrosek V., Schmieler R.E.: Aldosterone synthase (*CYP11B2*) -344 C/T polymorphism is associated with left ventricular structure in human arterial hypertension. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2001; 37: 878–884
- [12] Ebata H., Hojo Y., Ikeda U., Ishida H., Natsume T., Shimada K.: Differential effects of an alpha 1-blocker (doxazosin) on diurnal blood pressure variation in dipper and non-dipper type hypertension. *Hypertens. Res.*, 1995; 18: 125–130
- [13] Ehrhart-Bornstein M., Hinson J.P., Bornstein S.R., Scherbaum W.A., Vinson G.P.: Intraadrenal interactions in the regulation of adrenocortical steroidogenesis. *Endocr. Rev.*, 1998; 19: 101–143
- [14] Hatakeyama H., Miyamori I., Fujita T., Takeda Y., Takeda R., Yamamoto H.: Vascular aldosterone. Biosynthesis and a link to angiotensin II-induced hypertrophy of vascular smooth muscle cells. *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 24316–24320
- [15] Hautanen A., Lankinen L., Kupari M., Janne O.A., Adlercreutz H., Nikkila H., White P.C.: Associations between aldosterone synthase gene polymorphism and the adrenocortical function in males. *J. Intern. Med.*, 1998; 244: 11–18
- [16] Hautanen A., Toivanen P., Mänttari M., Tenkanen L., Kupari M., Manninen V., Kayes K.M., Rosenfeld S., White P.C.: Joint effects of an aldosterone synthase (*CYP11B2*) gene polymorphism and classic risk factors on risk of myocardial infarction. *Circulation*, 1999; 100: 2213–2218
- [17] Heymes C., Garnier A., Fuchs S., Bendall J.K., Nehme J., Ambroisine M.L., Robidel E., Swynghedauw B., Milliez P., Delcayre C.: Aldosterone-synthase overexpression in heart: a tool to explore aldosterone's effects. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2004; 217: 213–219
- [18] Higashi Y., Oshima T., Ozono R., Nakano Y., Matsuura H., Kambe M., Kajiyama G.: Nocturnal decline in blood pressure is attenuated by NaCl loading in salt-sensitive patients with essential hypertension: noninvasive 24-hour ambulatory blood pressure monitoring. *Hypertension*, 1997; 30: 163–167
- [19] Katada J., Meguro T., Saito H., Ohashi A., Anzai T., Ogawa S., Yoshikawa T.: Persistent cardiac aldosterone synthesis in angiotensin II type 1A receptor-knockout mice after myocardial infarction. *Circulation*, 2005; 111: 2157–2164
- [20] Katsuya T., Ishikawa K., Sugimoto K., Rakugi H., Ogihara T.: Salt sensitivity of Japanese from the viewpoint of gene polymorphism. *Hypertens. Res.*, 2003; 26: 521–525
- [21] Kayes-Wandover K.M., White P.C.: Steroidogenic enzyme gene expression in the human heart. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2000; 85: 2519–2525
- [22] Keidar S., Kaplan M., Pavlotzky E., Coleman R., Hayek T., Hamoud S., Aviram M.: Aldosterone administration to mice stimulates macrophage NADPH oxidase and increases atherosclerosis development: a possible role for angiotensin-converting enzyme and the receptors for angiotensin II and aldosterone. *Circulation*, 2004; 109: 2213–2220
- [23] Komiya I., Yamada T., Takara M., Asawa T., Shimabukuro M., Nishimori T., Takasu N.: Lys173Arg and -344T/C variants of *CYP11B2* in Japanese patients with low-renin hypertension. *Hypertension*, 2000; 35: 699–703
- [24] Kupari M., Hautanen A., Lankinen L., Koskinen P., Virolainen J., Nikkila H., White P.C.: Associations between human aldosterone synthase (*CYP11B2*) gene polymorphisms and left ventricular size, mass, and function. *Circulation*, 1998; 97: 569–575
- [25] Li L.A., Chang Y.C., Wang C.J., Tsai F.Y., Jong S.B., Chung B.C.: Steroidogenic factor 1 differentially regulates basal and inducible steroidogenic gene expression and steroid synthesis in human adrenocortical H295R cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2004; 91: 11–20
- [26] Lim P.O., MacDonald T.M., Holloway C., Friel E., Anderson N.H., Dow E., Jung R.T., Davies E., Fraser R., Connell J.M.: Variation at the aldosterone synthase (*CYP11B2*) locus contributes to hypertension in subjects with a raised aldosterone-to-renin ratio. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002; 87: 4398–4402
- [27] Lumbers E.R.: Angiotensin and aldosterone. *Regul. Pept.*, 1999; 80: 91–100
- [28] Matsubara M., Kikuya M., Ohkubo T., Metoki H., Omori F., Fujiwara T., Suzuki M., Michimata M., Hozawa A., Katsuya T., Higaki J., Tsuji I., Araki T., Ogihara T., Satoh H., Hisamichi S., Nagai K., Kitaoka H., Imai Y.: Aldosterone synthase gene (*CYP11B2*) C(334)T polymorphism, ambulatory blood pressure and nocturnal decline in blood pressure in the general Japanese population: the Ohasama Study. *J. Hypertens.*, 2001; 19: 2179–2184
- [29] Mizuno Y., Yoshimura M., Yasue H., Sakamoto T., Hisao O., Kugiyama K., Harada E., Nakayama M., Nakamura S., Ito T., Shimasaki Y., Saito Y., Nakao K.: Aldosterone production is activated in failing ventricle in humans. *Circulation*, 2001; 103: 72–77
- [30] Mornet E., Dupont J., Vitek A., White P.C.: Characterization of two genes encoding human steroid 11 beta-hydroxylase (P-450(11) beta). *J. Biol. Chem.*, 1989; 264: 20961–20967
- [31] Ortlepp J.R., Janssens U., Bleckmann F., Lauscher J., Merkelbach-Bruse S., Hanrath P., Hoffmann R.: A chymase gene variant is associated with atherosclerosis in venous coronary artery bypass grafts. *Coron. Artery Dis.*, 2001; 12: 493–497
- [32] Paillard F., Chansel D., Brand E., Benetos A., Thomas F., Czekalski S., Ardaillou R., Soubrier F.: Genotype-phenotype relationships for the renin-angiotensin-aldosterone system in a normal population. *Hypertension*, 1999; 34: 423–429
- [33] Patel S., Steeds R., Channer K., Samani N.J.: Analysis of promoter region polymorphism in the aldosterone synthase gene (*CYP11B2*) as a risk factor for myocardial infarction. *Am. J. Hypertens.*, 2000; 13: 134–139
- [34] Payne J.R., Dhamrait S.S., Toor I.S., Cooper J., Jones A., Miller G.J., Humphries S.E., Montgomery H.E.: The -344T>C promoter variant of the gene for aldosterone synthase (*CYP11B2*) is not associated with cardiovascular risk in a prospective study of UK healthy men. *Atherosclerosis*, 2004; 174: 81–86
- [35] Pezzi V., Clyne C., Ando S., Mathis J.M., Rainey W.E.: Ca²⁺-regulated expression of aldosterone synthase is mediated by calmodulin and calmodulin-dependent protein kinases. *Endocrinology*, 1997; 138: 835–838
- [36] Pitt B.: Effect of aldosterone blockade in patients with systolic left ventricular dysfunction: implications of the RALES and EPHEsus studies. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2004; 217: 53–58
- [37] Pitt B., Remme W., Zannad F., Neaton J., Martinez F., Roniker B., Bittman R., Hurley S., Kleiman J., Gatlin M.: Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study Investigators: Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.*, 2003; 348: 1309–1321
- [38] Pojoga L., Gautier S., Blanc H., Guyene T.T., Poirier O., Cambien F., Benetos A.: Genetic determination of plasma aldosterone levels in essential hypertension. *Am. J. Hypertens.*, 1998; 11: 856–860
- [39] Rajagopalan S., Duquaine D., King S., Pitt B., Patel P.: Mineralocorticoid receptor antagonism in experimental atherosclerosis. *Circulation*, 2002; 105: 2212–2216
- [40] Re R.N.: Mechanisms of disease: local renin-angiotensin-aldosterone systems and the pathogenesis and treatment of cardiovascular disease. *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.*, 2004; 1: 42–47
- [41] Satoh M., Nakamura M., Saitoh H., Satoh H., Akatsu T., Iwasaka J., Masuda T., Hiramori K.: Aldosterone synthase (*CYP11B2*) expression and myocardial fibrosis in the failing human heart. *Clin. Sci.*, 2002; 102: 381–386
- [42] Schunkert H., Hengstenberg C., Holmer S.R., Broeckel U., Luchner A., Muscholl M.W., Kürzinger S., Döring A., Hense H.W., Riegger G.A.: Lack of association between a polymorphism of the aldosterone synthase gene and left ventricular structure. *Circulation*, 1999; 99: 2255–2260
- [43] Semplicini A., Ceolotto G., Baritono E., Malendowicz L.K., Andreis P.G., Sartori M., Rossi G.P., Nussdorfer G.G.: Adrenomedullin stimulates DNA synthesis of rat adrenal zona glomerulosa cells through activation of the mitogen-activated protein kinase dependent cascade. *J. Hypertens.*, 2001; 19: 599–602



- [44] Silvestre J.S., Robert V., Heymes C., Aupetit-Faisant B., Mouas C., Moalic J.M., Swynghedauw B., Delcayre C.: Myocardial production of aldosterone and corticosterone in the rat. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 4883–4891
- [45] Slight S.H., Joseph J., Ganjam V.K., Weber K.T.: Extra-adrenal mineralocorticoids and cardiovascular tissue. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1999; 31: 1175–1184
- [46] Startchik I., Morabito D., Lang U., Rossier M.F.: Control of calcium homeostasis by angiotensin II in adrenal glomerulosa cells through activation of p38 MAPK. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 24265–24273
- [47] Sugawara T., Saito M., Fujimoto S.: Sp1 and SF-1 interact and cooperate in the regulation of human steroidogenic acute regulatory protein gene expression. *Endocrinology*, 2000; 141: 2895–2903
- [48] Suzuki J., Otsuka F., Inagaki K., Takeda M., Ogura T., Makino H.: Novel action of activin and bone morphogenetic protein in regulating aldosterone production by human adrenocortical cells. *Endocrinology*, 2004; 145: 639–649
- [49] Takeda R., Hatakeyama H., Takeda Y., Iki K., Miyamori I., Sheng W.P., Yamamoto H., Blair I.A.: Aldosterone biosynthesis and action in vascular cells. *Steroids*, 1995; 60: 120–124
- [50] Takeda Y., Miyamori I., Yoneda T., Iki K., Hatakeyama H., Blair I.A., Hsieh F.Y., Takeda R.: Production of aldosterone in isolated rat blood vessels. *Hypertension*, 1995; 25: 170–173
- [51] Takeda Y., Yoneda T., Demura M., Miyamori I., Mabuchi H.: Cardiac aldosterone production in genetically hypertensive rats. *Hypertension*, 2000; 36: 495–500
- [52] Tamaki S., Iwai N., Tsujita Y., Kinoshita M.: Genetic polymorphism of *CYP11B2* gene and hypertension in Japanese. *Hypertension*, 1999; 33: 266–270
- [53] The RALES Investigators: Effectiveness of spironolactone added to an angiotensin-converting enzyme inhibitor and a loop diuretic for severe chronic congestive heart failure (The Randomized Aldactone Evaluation Study [RALES]). *Am. J. Cardiol.*, 1996; 78: 902–907
- [54] Touyz R.M., Berry C.: Recent advances in angiotensin II signaling. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 2002; 35: 1001–1015
- [55] Tsujita Y., Iwai N., Katsuya T., Higaki J., Ogihara T., Tamaki S., Kinoshita M., Mannami T., Ogata J., Baba S.: Lack of association between genetic polymorphism of *CYP11B2* and hypertension in Japanese: The Suita Study. *Hypertens. Res.*, 2001; 24: 105–109
- [56] White P.C., Slutsker L.: Haplotype analysis of *CYP11B2*. *Endocrinol. Res.*, 1995; 21: 437–442
- [57] Wrona A., Widecka K., Adler G., Czekalski S., Ciechanowicz A.: Promoter variants of aldosterone synthase gene (*CYP11B2*) and salt-sensitivity of blood pressure. *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 2004; 111: 191–197
- [58] Yoshimura M., Nakamura S., Ito T., Nakayama M., Harada E., Mizuno Y., Sakamoto T., Yamamuro M., Saito Y., Nakao K., Yasue H., Ogawa H.: Expression of aldosterone synthase gene in failing human heart: quantitative analysis using modified real-time polymerase chain reaction. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002; 87: 3936–3940
- [59] Young M.J., Clyne C.D., Cole T.J., Funder J.W.: Cardiac steroidogenesis in the normal and failing heart. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001; 86: 5121–5126