

CHOROBY NACZYNIOWE

Barbara Gawel¹, Sabina Gałka², Andrzej Wajgt¹,
 Urszula Mazurek², Bartosz Chłopicki¹, Joanna Głogowska-Ligus²

Received: 30.05.2005

Accepted: 18.01.2006

Published: 31.03.2006

Wpływ polimorfizmu insercyjno-delecyjnego ACE na występowanie chorób sercowo-naczyniowych i udarów mózgu w ocenie współczesnych badaczy

Influence of insertion/deletion polymorphism of ACE on the incidence of cardiovascular diseases and stroke – modern scientists' opinion

¹ Klinika Neurologii Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach

² Katedra i Zakład Biologii Molekularnej i Genetyki Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach

Adres do korespondencji: Katedra i Klinika Neurologii Śląskiej Akademii Medycznej, ul. Medyków 14, 40-758 Katowice, tel.: 032 789 45 51, faks: 032 252 71 11

Praca finansowana ze środków własnych

Streszczenie

W ostatnim dziesięcioleciu szczególne zainteresowanie budzi podłoże genetyczne udarów. Intensywne badania prowadzi się nad rolą polimorfizmu genów, których produkty białkowe są zaangażowane w mechanizmy działania układu renina – angiotensyna. Szczególne zainteresowanie wzbudził polimorfizm insercyjno-delecyjny (ID) genu kodującego enzym konwertazę angiotensyny (ACE). Enzym jest dipeptydylokarboksypeptydazą przekształcającą angiotensynę I (Ang I) w angiotensynę II (Ang II) oraz inaktywującą bradykininę. Gen kodujący ACE zlokalizowany został w chromosomie 17. w roku 1988. W 1990 roku Rigat i wsp. wykryli istnienie polimorfizmu w okolicy 3' 16. intronu genu dla ACE, zlokalizowanego w prążku q23 chromosomu 17. Homozygoty DD wykazują dwukrotnie większą aktywność enzymu w osoczu aniżeli homozygoty II, podczas gdy heterozygoty ID wykazują pośrednie aktywności. Odsetek osób z wysoką aktywnością konwertazy w surowicy (>40 nmol/min) jest znacząco większy w grupie chorych na nadciśnienie tętnicze w porównaniu z grupą osób zdrowych. Według niektórych badaczy genotyp DD, któremu towarzyszy wyższa aktywność enzymu ACE, może być niezależnym czynnikiem ryzyka zawału serca, kardiomiopatii przerostowej i rozstrzeniowej, nagłego zgonu sercowego oraz niektórych powikłań nadciśnienia tętniczego. Allel D jest nieznacznym, ale niezależnym czynnikiem ryzyka udarów niedokrwiennych mózgu. Badania przeprowadzone w populacji Polaków wykazały, że allel D jest niezależnym czynnikiem ryzyka udarów krwotocznych mózgu.

SŁOWA KLUCZOWE: udar mózgu, choroby sercowo-naczyniowe, polimorfizm genu kodującego konwertazę angiotensyny, angiotensyna II, czynniki ryzyka

Summary

For many years strokes have been a priority research subject. The genetic background of strokes has been of particular interest during the last decade. Intensive research is conducted into the role of polymorphism of the genes whose protein products are involved in the mechanisms of the renin-angiotensin system. Especially interesting is the insertion/deletion (ID) polymorphism of the gene responsible for the encoding of the angiotensin-converting enzyme (ACE). The enzyme is a dipeptidyl carboxypeptidase transforming angiotensin I

(Ang I) into angiotensin II (Ang II) and inactivating bradykinin. The gene of ACE was found in chromosome 17 in 1988 year. In 1990 Rigat et al. discovered polymorphism in the area of 3' 16 intron of the ACE gene, located in band q23 of chromosome 17. DD homozygotes demonstrate a twice increased activity of the enzyme in plasma than II homozygotes, while ID heterozygotes demonstrate intermediate activity. The percentage of persons with high serum convertase activity (>40 nmol/min) is significantly greater among patients with arterial hypertension than in health persons. According to some researchers, the genotype DD, which is accompanied by higher ACE activity, may be an independent myocardial infarction risk factor, hyperplastic and dilatation cardiomyopathy, sudden cardiac death, and some complications of arterial hypertension. The D allele is a considerable but independent risk factor for ischemic stroke. The investigation led among Polish population is evidenced that D allele is an independent risk factor for hemorrhage stroke.

KEY WORDS: cerebral stroke, cardiovascular diseases, polymorphism of angiotensin-converting enzyme, angiotensin II, risk factors

Enzym konwertujący angiotensynę (ACE) jest dipeptydylokarboksypeptydazą przekształcającą angiotensynę I w angiotensynę II. Inaktywuje on bradykininę i odgrywa ważną rolę w metabolizmie substancji P oraz enkefalin⁽¹⁾. ACE jest obecny niemal we wszystkich tkankach i płynach tkankowych. Należy do metylopeptydaz cynkowych, jej centrum katalityczne zawiera cztery kluczowe aminokwasy: tyrozynę, argininę, glutaminę i lizynę. Występuje w organizmie w postaci dwóch izoenzymów: płucnego i jądrowego. Jego największe stężenie stwierdzono w nerce, nadnerczach, macicy, prostaty, jądrach, płucach, jelicie cienkim, sercu i w aorcie⁽²⁾. Angiotensyna II wykazuje wielokierunkowe działanie nerkowe i pozanerkowe poprzez pobudzenie receptorów AT-1 i AT-2⁽³⁾. Główny efekt działania angiotensyny II polega na skurczu naczyń krwionośnych (efekt wazokonstrykcyjny pozanerkowy). Angiotensyna II wpływa na wzrost poziomu endoteliny i spadek stężenia tlenu azotu, ponadto pobudza aktywność układu współczulnego i wzrost agregacji płytek. ACE wzmaga procesy prooksydacyjne. Stymulując utlenianie frakcji lipoproteidów o niskiej gęstości LDL, przyczynia się do powstania komórek piankowatych⁽⁴⁾. Angiotensyna II indukuje proliferację komórek gładkich naczyń⁽¹⁾. Obkurczając mięśniówkę gładką naczyń doprowadzających krew do kłębuszka, powoduje spadek przesączania kłębuszkowego, a w efekcie wzrost resorpcji zwrotnej sodu w cewkach nerkowych, wzrost resorpcji wody i zwiększenie pozakomórkowej przestrzeni wodnej. Zwiększa sekrecję aldosteronu w nadnerczach i hamuje sekrecję reniny. W centralnym systemie nerwowym wpływa na zwiększenie produkcji wazopresyny (ADH) i pobudza ośrodek pragnienia. Prostaglandyny PGI₂ oraz PGE₂ produkowane są pod wpływem stymulującego działania angiotensyny II oraz kinin, same zaś pobudzają produkcję reniny. Prostacyklina PGI₂, produkowana przez komórki śródbłonna i płytki, jest silnym czynnikiem naczyniorozkurczowym oraz antyagregacyjnym. Gen kodujący ACE zlokalizowany został w chromosomie 17. w roku 1988⁽⁵⁾. W 1990 roku Rigat i wsp.⁽⁶⁾ wykryli istnienie polimorfizmu insercyjno-delecyjnego genu

kodującego enzym konwertujący angiotensynę (ACE), który to polimorfizm związany jest z aktywnością tego enzymu. Polimorfizm ten dotyczy fragmentu około 287 par zasad, repetytywnej sekwencji Alu w okolicy 3' 16. intronu genu kodującego ACE, który jest zlokalizowany w prążku 23. chromosomu 17. W populacji ludzkiej występują trzy genotypy: DD, ID, II. Wyniki badań ostatnich lat sugerują, że genotyp DD, któremu towarzyszy wyższa aktywność ACE w surowicy krwi i tkankach, może być niezależnym czynnikiem ryzyka zawału serca⁽⁷⁾, kardiomiopatii przerostowej i rozstrzeniowej⁽⁸⁾, nagłego zgonu sercowego, a także niektórych powikłań nadciśnienia tętniczego i innych schorzeń układu sercowo-naczyniowego⁽⁹⁾.

Większość przeprowadzonych badań nie dostarczyła dowodów na związek genotypu ACE z występowaniem pierwotnego nadciśnienia tętniczego, jedynie nieliczni badacze potwierdzali taką zależność. Stwierdzono natomiast, że nadciśnienie naczyniowo-nerkowe częściej występuje u homozygot DD⁽⁹⁾. Przypuszcza się, że allel D jest czynnikiem ryzyka rozwoju powikłań narządowych w przebiegu pierwotnego nadciśnienia tętniczego – tezę tę potwierdzają wyniki badań wskazujące na zwiększoną częstość rozwoju retinopatii oraz przerostu lewej komory serca u chorych z nadciśnieniem tętniczym⁽¹⁰⁾. Zaobserwowano również częste występowanie mikroalbuminurii u nosicieli allelu D, który to objaw uważa się za „zastępczy wskaźnik” uszkodzenia nerek w przebiegu pierwotnego nadciśnienia tętniczego⁽¹¹⁾.

Cambien i wsp. w 1992 roku⁽¹²⁾ jako pierwsi zauważyli, że polimorfizm genu ACE może stanowić czynnik ryzyka zawału mięśnia sercowego. Ryzyko wystąpienia zawału u mężczyzn, homozygot DD było większe niż w innych genotypach. Allel D okazał się czynnikiem ryzyka niezależnym od hiperlipidemii, palenia papierosów, otyłości, nadciśnienia tętniczego i stężenia fibrynogenu w osoczu. Lindpaintner i wsp.⁽⁷⁾ nie potwierdzają takiej zależności. W badaniach przeprowadzonych przez Gruchałę i wsp.⁽¹³⁾ u osób poniżej 50. roku życia nie stwierdzono powiązań genotypu delecyjnego genu ACE z występowaniem miażdżycy tętnic wieńcowych, nadciśnienia tę-

niczego oraz zawału serca. Z kolei Ruiz i wsp.⁽¹⁴⁾ zaobserwowali częstsze występowanie genotypu delecyjnego u chorych z miażdżycą i cukrzycą. Wyniki badań wskazują na istnienie zależności między grubością błony wewnętrznej tętnicy szyjnej a aktywnością enzymu konwertującego. Varda i wsp.⁽¹⁵⁾ w 2000 roku podjęli próbę odpowiedzi na pytanie: czy rodzinne występowanie chorób naczyniowych serca w następnym pokoleniu jest rezultatem predyspozycji genetycznych czy też raczej zachowania określonego stylu życia? Wyniki badania nie potwierdziły hipotezy, że polimorfizm ACE jest czynnikiem ryzyka chorób naczyniowych serca u dzieci, których rodzice w młodym wieku przeżyli udar.

Badania przeprowadzone w naszej Klinice Neurologii wśród populacji polskiej⁽¹⁶⁾ nie wykazały zależności pomiędzy częstszym występowaniem udarów mózgu a genotypem DD (genotyp delecyjno-delecyjny) genu kodującego enzym konwertazę angiotensyny. Badaliśmy chorych z udarem niedokrwiennym (68 osób) i krwotocznym (23 osoby) z podziałem na podgrupy z nadciśnieniem tętniczym i bez w odniesieniu do grupy kontrolnej (47 osób). Częstość występowania polimorfizmu ID w grupie pacjentów z udarem wynosi 0,52/0,48 – w grupie kontrolnej 0,39/0,61. Podobne wyniki uzyskali w 1994 roku Sharma i wsp.⁽¹⁷⁾, badając grupę 100 pacjentów z udarem mózgu i porównując ją z odpowiednio dobraną pod względem płci i wieku grupą 70-osobową. Częstość występowania polimorfizmu ID w grupie pacjentów z udarem wynosiła 0,57/0,43, zaś w grupie kontrolnej – 0,48/0,52 (różnica nieznamienista statystycznie). Autorzy ci badali również związek między genotypem ACE ID a poziomem surowiczym enzymu ACE w grupie 28 chorych i 19-osobowej grupie kontrolnej⁽¹⁸⁾. Nie wykazano znaczącej korelacji pomiędzy stężeniem enzymu ACE a genotypem DD chorych na udar. Inne wyniki uzyskali w 1996 roku Sertic i wsp.⁽¹⁹⁾, badając polimorfizm ACE ID w grupie chorych z miażdżycą naczyń mózgowych. Autorzy wykazali znamienne przewagę występowania genotypu DD w 50-osobowej grupie badanej – 46% przypadków vs. 24% w grupie kontrolnej. Ponieważ genotyp DD korelował z wysokim stężeniem LDL i TG w surowicy krwi, badacze wnioskowali, że genotyp ten jest znaczącym czynnikiem ryzyka rozwoju miażdżycy naczyń mózgu. Kario i wsp.⁽²⁰⁾, analizując 228 przypadków Japończyków z nadciśnieniem tętniczym, w tym 83 przypadki chorych z udarem niedokrwiennym mózgu oraz 104 bez nadciśnienia tętniczego, stwierdzili, że genotyp DD częściej występował u chorych z nadciśnieniem i udarem, bo aż w 138, tj. 47% przypadków. Nie wykazano istotnej różnicy pomiędzy grupą z nadciśnieniem i bez udaru a normotensyjną grupą kontrolną, w związku z czym Kario i wsp. wnioskowali, że ACE DD jest znamienny dla udarów z nadciśnieniem i może być czynnikiem ryzyka rozwoju naczyniowych zespołów mózgowych w nadciśnieniu tętniczym. Tired i wsp.⁽²¹⁾ badali w populacji francuskiej zależność pomiędzy polimor-

fizmem genów kodujących białka układu renina – angiotensyna a predyspozycją do umiarkowanego i ciężkiego nadciśnienia tętniczego w powiązaniu z wywiadem rodzinnym zawału mięśnia sercowego oraz udaru niedokrwiennego mózgu. Występowanie polimorfizmu delecyjnego ACE stwierdzano znacznie częściej u pacjentów z dodatnim wywiadem rodzinnym udaru mózgu, w wieku poniżej 65 lat. Badania te dowodzą, że polimorfizm genu kodującego angiotensynogen (AGT) wiąże się z predyspozycją do nadciśnienia tętniczego, natomiast polimorfizm ACE zwiększa ryzyko udaru niedokrwiennego mózgu. Moliaka i wsp.⁽²²⁾ wyłonili grupę pacjentów Rosjan z udarem niedokrwiennym mózgu i bez nadciśnienia tętniczego. Porównując ją z grupą kontrolną ludzi zdrowych, nie wykazali znamiennej statystycznie różnicy w występowaniu poszczególnych typów polimorficznych DD/II/ID, co sugeruje, że polimorfizm ACE ID nie jest czynnikiem ryzyka udaru mózgu bez nadciśnienia tętniczego. Kostulas i wsp.⁽²³⁾ badali występowanie alleli polimorfizmu ID w udarze niedokrwiennym mózgu i zespołach naczyniowo-sercowych w grupie 68 pacjentów z udarem mózgu i ponad 50% zwężeniem tętnicy szyjnej wewnętrznej. Autorzy wykazali, iż homozygoty DD występują znacząco statystycznie częściej (różnica $p < 0,05$) zarówno w grupie chorych ze zwężoną tętnicą szyjną, jak i w grupie udarów, co dowodzi, iż polimorfizm DD jest czynnikiem ryzyka rozwoju zwężenia tętnicy i udarów mózgu. Peterlin i wsp.⁽²⁴⁾ analizowali występowanie polimorfizmu ACE ID u Słowian. Grupę 124 pacjentów z udarem niedokrwiennym mózgu porównali z grupą 161 osób zdrowych. W badaniu nie stwierdzono znamiennej częstszego występowania genotypu DD u osób z udarem. Wniosek był prosty: polimorfizm nie jest czynnikiem ryzyka dla grupy Słowian z udarem mózgu. Wei i wsp.⁽²⁵⁾ badali polimorfizm genów AGT i ACE u 257 pacjentów z samoistnym nadciśnieniem oraz 218 z nadciśnieniem tętniczym i udarem mózgu – przy czym 131 chorych miało udar krwotoczny, a 87 niedokrwienny. Wykazano, iż polimorfizm delecyjno-delecyjny ACE występuje znacznie częściej u osób z udarem niedokrwiennym i nadciśnieniem tętniczym niż u pacjentów z udarem krwotocznym i nadciśnieniem tętniczym. Iloraz szans (*odds ratio*, OR) występowania genotypu DD/II wynosił dla udaru niedokrwiennego 3,25, a dla krwotocznego 2,87. Wyniki dowodzą, że w populacji Chińczyków genotyp DD jest jednym z czynników ryzyka udaru niedokrwiennego mózgu z nadciśnieniem tętniczym. Nie wykazano takiej zależności dla polimorfizmu genu AGT. Lin i wsp. w 2000 roku⁽²⁶⁾ badali zależność pomiędzy polimorfizmem delecyjnym ACE a chorobami naczyniowymi mózgu w populacji Japończyków i białych na Tajwanie. Grupa z udarem liczyła 306 pacjentów, grupa kontrolna – 300, dobranych odpowiednio pod względem wieku i płci. Genotyp DD występował częściej w grupie z udarem niż kontrolnej, niemniej różnicy statystycznie znamiennej nie stwierdzono. Autorzy

wnioskowali, że polimorfizm DD nie jest istotny dla patogenezy chorób naczyniowych mózgu. Słowik i wsp.⁽²⁷⁾ badali w populacji polskiej wpływ genotypu DD na występowanie udarów niedokrwiennych (70 osób) i krwotocznych mózgu (58 osób) w odniesieniu do grupy kontrolnej 116 osób, z uwzględnieniem nadciśnienia tętniczego. Nadciśnienie tętnicze występowało u 84,5% chorych z udarem krwotocznym i 73,4% w grupie udarów niedokrwiennych. Autorzy pracy sądzą, że genotyp DD stanowi niezależny czynnik ryzyka udarów krwotocznych mózgu.

Genotyp DD enzymu konwertującego angiotensynę I uważany jest za istotny czynnik ryzyka zawałów. Wyniki badań analizujących genotyp DD enzymu ACE jako czynnik ryzyka udarów niedokrwiennych mózgu są nieśpójne. Metaanaliza 1196 przypadków z udarem niedokrwiennym mózgu i 722 osób zdrowych przeprowadzona przez Sharmę⁽²⁸⁾ wykazała, że allel D jest nieznaczącym, niezależnym czynnikiem ryzyka udarów niedokrwiennych mózgu. Badania przeprowadzone w populacji Polaków ujawniły, że allel D jest niezależnym czynnikiem ryzyka udarów krwotocznych mózgu.

PIŚMIENNICTWO:

1. Stajszczyk M., Gmiński J.: Układ renina-angiotensyna a miażdżycę. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 1993; 41: 475-485.
2. Stajszczyk M., Gmiński J.: Rola polimorfizmu DNA układu renina-angiotensyna w patogenezie chorób układu krążenia. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 1997; 51: 171-183.
3. Griendling K.K., Murphy T.J., Alexander R.W.: Molecular biology of the renin-angiotensin system. *Circulation* 1993; 87: 1816-1828.
4. Naruszewicz M.: Rola angiotensyny II w modyfikacji lipoprotein LDL. Wpływ na miażdżycę. *Czynniki Ryzyka* 1998; 4: 35-38.
5. Soubrier F., Alhenc-Gelas F., Hubert C. i wsp.: Two putative active centers in human angiotensin I-converting enzyme revealed by molecular cloning. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1988; 85: 9386-9390.
6. Rigat B., Hubert C., Alhenc-Gelas F. i wsp.: An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J. Clin. Invest.* 1990; 86: 1343-1346.
7. Lindpaintner K., Pfeffer M.A., Kreutz R. i wsp.: A prospective evaluation of an angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart disease. *N. Engl. J. Med.* 1995; 332: 706-711.
8. Raynolds M.V., Bristow M.R., Bush E.W. i wsp.: Angiotensin-converting enzyme DD genotype in patients with ischaemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet* 1993; 342: 1073-1075.
9. Missouris C.G., Barley J., Jeffery S. i wsp.: Genetic risk for renal artery stenosis: association with deletion polymorphism in angiotensin 1-converting enzyme gene. *Kidney Int.* 1996; 49: 534-537.
10. Pontremoli R., Sofia A., Tirota A. i wsp.: The deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is associated with target organ damage in essential hypertension. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1996; 7: 2550-2558.
11. Ringel J., Beige J., Kunz R. i wsp.: Genetic variants of the renin-angiotensin system, diabetic nephropathy and hypertension. *Diabetologia* 1997; 40: 193-199.
12. Cambien F., Poirier O., Lecerf L. i wsp.: Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992; 359: 641-644.
13. Gruchała M., Cieciewicz D., Targoński R. i wsp.: Polimorfizm genu enzymu konwertującego angiotensynę I u osób poniżej 50 roku życia, z chorobą wieńcową i nadciśnieniem tętniczym lub bez. *Nadciśnienie Tętnicze* 1998; 2: 27-33.
14. Ruiz J., Blanche H., Cohen N. i wsp.: Insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene is strongly associated with coronary heart disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1994; 91: 3662-3665.
15. Varda N.M., Peterlin B., Umek Bradač S. i wsp.: Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism as a cardiovascular risk factor in children. *Pflugers Arch.* 2000; 439 (3 suppl.): R34-R35.
16. Gawel B.: Polimorfizm genu kodującego enzym konwertujący angiotensynę oraz polimorfizm mitochondrialnego DNA u chorych z udarem mózgu. Praca doktorska 2003, Śląska Akademia Medyczna w Katowicach.
17. Sharma P., Carter N.D., Barley J., Brown M.M.: Molecular approach to assessing the genetic risk of cerebral infarction: deletion polymorphism in the gene encoding angiotensin 1-converting enzyme. *J. Hum. Hypertens.* 1994; 8: 645-648.
18. Sharma P., Carter N.D., Barley J. i wsp.: Polymorphisms in the gene encoding angiotensin 1-converting enzyme and relationship to its post-translational product in cerebral infarction. *J. Hum. Hypertens.* 1994; 8: 633-634.
19. Sertic J., Hebrang D., Janus D. i wsp.: Association between deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and cerebral atherosclerosis. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1996; 34: 301-304.
20. Kario K., Kanai N., Saito K. i wsp.: Ischemic stroke and the gene for angiotensin-converting enzyme in Japanese hypertensives. *Circulation* 1996; 93: 1630-1633.
21. Tiret L., Blanc H., Ruidavets J.B. i wsp.: Gene polymorphisms of the renin-angiotensin system in relation to hypertension and parental history of myocardial infarction and stroke: the PEGASE study. *Projet d'Etude des Genes de l'Hypertension Arterielle Severe a moderee Essentielle. J. Hypertens.* 1998; 16: 37-44.
22. Moliaka Iu.K., Petruk S.V., Kir'ianov S.A. i wsp.: [Association analysis of polymorphism in angiotensin-converting enzyme gene in ischemic stroke]. *Zh. Nevrol. Psikhiatr. Im. S.S. Korsakova* 1998; 98: 35-37.
23. Kostulas K., Huang W.X., Crisby M. i wsp.: An angiotensin-converting enzyme gene polymorphism suggests a genetic distinction between ischaemic stroke and carotid stenosis. *Eur. J. Clin. Invest.* 1999; 29: 478-483.
24. Peterlin B., Milanez T., Kobal J. i wsp.: DD genotype of the angiotensin-converting enzyme gene and stroke in Slovenian population. *Pflugers Arch.* 2000; 439 (3 suppl.): R38-R39.
25. Wei X., Wang G., Jiang C. i wsp.: [Association between hypertensive cerebrovascular stroke and renin-angiotensin system gene polymorphism from Chinese cohort in Shanghai]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2000; 17: 256-258.
26. Lin J.J., Yueh K.C., Lin G.Y. i wsp.: Lack of association between angiotensin I-converting enzyme gene deletion polymorphism and cerebrovascular disease in Taiwanese. *J. Formos. Med. Assoc.* 2000; 99: 895-901.
27. Słowik A., Turaj W., Dziedzic T. i wsp.: DD genotype of ACE gene is a risk factor for intracerebral hemorrhage. *Neurology* 2004; 63: 359-361.
28. Sharma P.: Meta-analysis of the ACE gene in ischaemic stroke. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 1998; 64: 227-230.