



## Związek polimorfizmu receptora $\beta_3$ -adrenergicznego z występowaniem parametrów zespołu metabolicznego i stresu oksydacyjnego u kobiet po menopauzie

Relationship of  $\beta_3$ -adrenergic receptor polymorphism with metabolic syndrome and oxidative stress parameters in postmenopausal women

Katarzyna Dunajska<sup>1</sup>, Felicja Lwow<sup>1</sup>, Urszula Tworowska<sup>2</sup>, Diana Jędrzejuk<sup>2</sup>, Andrzej Milewicz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Katedra Medycyny Sportu, Zakład Promocji Zdrowia, Akademia Wychowania Fizycznego, Wrocław

<sup>2</sup>Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami, Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich, Wrocław

### Streszczenie

**Wstęp:** Istnieją doniesienia, że polimorfizm Trp<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> receptora  $\beta_3$ -adrenergicznego (ADRB3) wiąże się z częstszym występowaniem otyłości, insulinooporności i wcześniejszym rozwojem cukrzycy typu 2. Celem niniejszych badań była ocena częstości występowania i związku wspomnianego polimorfizmu ADRB3 z zespołem metabolicznym i parametrami stresu oksydacyjnego u kobiet po menopauzie.

**Materiał i metody:** Do badania zakwalifikowano 94 kobiety w wieku 50–60 lat, wybrane losowo spośród mieszkanek Wrocławia. U wszystkich badanych wykonano pomiary antropometryczne, densytometrię całego ciała z oceną depozytu andro- i gynoidalnego (z użyciem aparatu DPX(+) Lunar, USA) oraz oznaczenia biochemiczne: profil lipidowy, stężenie glukozy, insuliny, estradiolu i hormonu folikulotropowego (FSH, *follicle-stimulating hormone*) z użyciem komercyjnych zestawów odczynników. Wskaźnikiem stresu oksydacyjnego było stężenie substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) oznaczane w surowicy metodą Yagi, na spektrofлуorymetrze Perkin-Elmer LS55. Krew do oznaczenia stresu oksydacyjnego pobierano przed, bezpośrednio po i 6 godzin po 30-minutowym wysiłku fizycznym na cykloergometrze. Genotypowanie ADRB3 przeprowadzono metodą łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR, *polymerase chain reaction*) i minisekwencjonowania z użyciem aparatu ABI 310 (Applied Biosystems).

**Wyniki:** Częstość występowania genotypu Trp<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> w badanej populacji wyniosła 15,8%. Genotyp Arg<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> wystąpił tylko u jednej osoby. Kobiety z genotypem Trp<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> miały średnio wyższe stężenie triglicerydów i niższe stężenie cholesterolu frakcji HDL w surowicy w porównaniu z kobietami z genotypem Trp<sup>64</sup>/Trp<sup>64</sup>, chociaż różnica ta nie była istotna statystycznie ( $p > 0,05$ ) (odpowiednio: średnia  $\pm$  odchylenie standardowe dla triglicerydów: 140,3  $\pm$  64,1 vs. 113,9  $\pm$  56,2 mg/dl; dla cholesterolu frakcji HDL: 60,9  $\pm$  11,9 vs. 67,0  $\pm$  16,9 mg/dl). Poza tym obie grupy nie różniły się żadnym innym badanym parametrem antropometrycznym i biochemicznym.

**Wnioski:** 1. Polimorfizm Trp<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> receptora  $\beta_3$ -adrenergicznego może wiązać się z występowaniem zaburzeń lipidowych charakterystycznych dla zespołu metabolicznego u kobiet po menopauzie, jednak problem ten wymaga przeprowadzenia badań wśród większej grupy badanych. 2. Polimorfizm Trp<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> receptora  $\beta_3$ -adrenergicznego nie wpływa na nasilenie stresu oksydacyjnego po standaryzowanym wysiłku fizycznym u kobiet po menopauzie.

(*Endokrynol Pol* 2007; 58 (3): 201–206)

**Słowa kluczowe:** polimorfizm, receptor  $\beta_3$ -adrenergiczny, zespół metaboliczny, stres oksydacyjny, kobiety pomenopauzalne

### Abstract

**Introduction:** Some studies indicate, that the Trp<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> polymorphism of  $\beta_3$ -adrenergic receptor (ADRB3) is associated with obesity, insulin resistance and earlier onset of type 2 diabetes mellitus.



Dr med. Katarzyna Dunajska  
Akademia Wychowania Fizycznego  
Katedra Medycyny Sportu, Zakład Promocji Zdrowia  
al. I.J. Paderewskiego 35 (P-3, p. 200), 51-612 Wrocław  
tel.: 071 347 33 46  
e-mail: [dunajska@mp.pl](mailto:dunajska@mp.pl)

Badania realizowane w ramach grantu nr 2PO5D 00428

The aim of our study was evaluation of frequency of this ADRB3 polymorphism and his association with metabolic syndrome parameters and oxidative stress in postmenopausal women.

**Material and methods:** We performed the study among 94 women, aged 50–60, selected randomly from Wrocław city population. Estimation of anthropometric parameters, densitometry (total body fat, android and gynoid deposits — using DPX(+) Lunar, USA device) and biochemical estimations such as lipid profile, glucose, insulin, estradiol and FSH serum level (using commercial kits) were carried out. Oxidative stress was estimated by measurement of thiobarbituric-reactive substances (TBARS) serum concentration, using Yagi method, on spectrofluorimeter Perkin-Elmer LS55. Blood for analysis was collected before, direct after and 6 h after the 30-minutes physical test using cycloergometer. ADRB3 genotyping was performed by PCR and minisequencing using ABI 310 sequencer (Applied Biosystems).

**Results:** The frequency of Trp<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> genotype in investigated population was 15.8%. The Arg<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> genotype had only one woman. Women bearing Trp<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> genotype showed higher mean serum level of triglycerides and lower serum level of HDL-cholesterol in comparison to women bearing Trp<sup>64</sup>/Trp<sup>64</sup> genotype, however without statistical significance ( $p > 0.05$ ) (respectively, means  $\pm$  SD for triglycerides:  $140.3 \pm 64.1$  vs.  $113.9 \pm 56.2$  mg/dl; and for HDL-cholesterol:  $60.9 \pm 11.9$  vs.  $67.0 \pm 16.9$  mg/dl). Both groups did not differ in any other investigated anthropometric nor biochemic parameter.

**Conclusions:** 1. The Trp<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> polymorphism of  $\beta_3$ -adrenergic receptor could be associated with lipid profile disorders observed in metabolic syndrome in postmenopausal women, however it should be explained basing on the study with more included subjects. 2. The Trp<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> polymorphism of  $\beta_3$ -adrenergic receptor has no influence on oxidative stress intensification after standardized physical effort in postmenopausal women.

(Pol J Endocrinol 2007; 58 (3): 201–206)

**Key words:** polymorphism,  $\beta_3$ -adrenergic receptor, metabolic syndrome, oxidative stress, postmenopausal women

## Wstęp

U kobiet po menopauzie zwiększa się częstość występowania otyłości, zwłaszcza otyłości wisceralnej [1], której towarzyszą zaburzenia typowe dla zespołu metabolicznego i podwyższone ryzyko chorób układu krążenia [2–4]. Jej etiologia jest bardzo złożona. Istotną rolę odgrywają tu zarówno czynniki genetyczne, jak i środowiskowe. Opisano polimorfizm wielu genów, których produkty wiążą się z regulacją masy ciała, a mutacje w ich obrębie mogą predysponować do otyłości. Jednym z nich jest polimorfizm genu dla receptora  $\beta_3$ -adrenergicznego. Receptory  $\beta_2$ - i  $\beta_3$ -adrenergiczne biorą udział zarówno w procesach termogenezy, jak i lipolizy w tkance tłuszczowej [5]. Mutacja receptora  $\beta_2$ -adrenergicznego w kodonie 16 (Gly-Arg) i 27 (Gln  $\rightarrow$  Glu) wykazuje związek z zespołem metabolicznym u mężczyzn [6]. Receptory  $\beta_3$ -adrenergiczne przekazują sygnał do wnętrza komórek przez aktywację pojedynczej białka Gs [7]. Zwiększają w ten sposób stężenie wewnątrzkomórkowego cAMP, co działa stymulująco na szlaki metaboliczne, regulujące szybkość przemiany podstawowej. Ekspresję receptora  $\beta_3$  wykazano głównie w brzusznej tkance tłuszczowej, dlatego też nadmiar tkanki tłuszczowej brzusznej i lipolizę, odpowiedzialną za insulinooporność, próbuje się tłumaczyć polimorfizmem tego genu [8]. Udowodniony związek między receptorem  $\beta_3$  i aktywacją *uncoupling protein 1* (UCP-1), białka rozpraszającego energię łańcucha oddechowego w postaci ciepła i hipotetyczny wzajemny model regulacji receptora  $\beta_3$  przez leptynę stwarza dodatkowe podstawy świadczące o udziale polimorfizmu

receptora  $\beta_3$  w rozwoju otyłości [9, 10]. Mutacja receptora  $\beta_3$  w kodonie 64 (Trp $\rightarrow$ Arg) opisano jako sprzyjającą powstawaniu otyłości, wcześniejszemu ujawnieniu się cukrzycy typu 2 i obniżeniu tempa metabolizmu podstawowego [11–13]. Związki te potwierdzono w wielu [14–17], lecz nie we wszystkich badaniach [18]. Brak spójności w badaniach świadczy prawdopodobnie o niewielkiej roli, jaką odgrywa polimorfizm tego genu w powstawaniu otyłości u ludzi [19], a być może z faktu, że badania te przeprowadzono w niejednorodnych populacjach. Dlatego też podjęto badania polimorfizmu Trp<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> receptora  $\beta_3$ -adrenergicznego w losowo wybranej, homogennej populacji, gdzie występują podobne czynniki środowiskowe i genetyczne.

Otyłość i insulinooporność wiążą się ze zwiększonym stresem oksydacyjnym [20]. Dandona i wsp. [21] wykazał, że wskaźnik oksydacyjnych uszkodzeń lipidów, białek i aminokwasów jest większy u otyłych, a stres oksydacyjny uważa się za jeden z głównych mechanizmów odpowiedzialnych za dysfunkcję śródbłonna [22]. Dlatego autorzy niniejszego badania postanowili sprawdzić, czy istnieje związek między występowaniem wspomnianego polimorfizmu a nasileniem stresu oksydacyjnego na skutek standaryzowanego wysiłku fizycznego u kobiet po menopauzie.

## Cel badań

Celem niniejszych badań była ocena związku występowania polimorfizmu Trp<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> receptora  $\beta_3$ -adrenergicznego z parametrami zespołu metabolicznego

u kobiet po menopauzie. Autorzy chcieli także zbadać, czy wspomniany polimorfizm receptora  $\beta_3$ -adrenergicznego wpływa na nasilenie stresu oksydacyjnego po standaryzowanym wysiłku fizycznym u kobiet po menopauzie.

## Material i metody

Analizie poddano wstępną grupę 94 kobiet po menopauzie w wieku 50–60 lat, które losowo wybrano spośród mieszkanek Wrocławia, a następnie zakwalifikowano do wzięcia udziału w badaniach realizowanych w ramach grantu nr 2PO5D 00428. Kryteria wykluczenia z badania były następujące: choroby przewlekłe, wymagające szczególnej diety lub leczenia lekami hipoglikemizującymi, hipolipemizującymi lub steroidami, stosowanie hormonalnej terapii zastępczej i palenie tytoniu.

Badania obejmowały wywiad, badanie przedmiotowe (w tym pomiar ciśnienia tętniczego), pomiary antropometryczne (wskaźnik masy ciała [BMI, *body mass index*], obwód talii) oraz badanie densytometryczne („*total body*”), które wykonano metodą absorpcjometrii podwójnej wiązki promieniowania rentgenowskiego (DEXA, *Dual energy X-ray absorptiometry*, aparat DPX+ LUNAR, USA). Korzystając z programu „*total body*”, oceniono całkowitą zawartość tłuszczu w organizmie oraz obliczono depozyt androidalny (przez wyznaczenie procentowej zawartości tłuszczu w obszarze ograniczonym od góry przez górny brzeg kręgu L1, a od dołu przez dolny brzeg L4) i depozyt gynoidalny (w obszarze ograniczonym od góry przez guzy kulszowe, a od dołu przez kolana). Ponadto pobrano krew do badań biochemicznych, hormonalnych i genetycznych. Stężenia triglicerydów, cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji LDL i frakcji HDL oraz glukozy oznaczono metodami enzymatycznymi (Olympus Au 560; bioMérieux, Francja). Oznaczenie stężenia insuliny wykonano metodą immunoradiometryczną (IRMA, *immunoradiometric assay*), a estradiolu (E2) i hormonu folikulotropowego (FSH, *follicle-stimulating hormone*) — metodą radioimmunologiczną (RIA, *radioimmuno assay*). Oznaczenia hormonalne wykonano przy użyciu komercyjnych zestawów odczynników (DPC Diagnostic, USA) w atestowanym Laboratorium Naukowym Kliniki Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami AM we Wrocławiu.

Wskaźnikiem stresu oksydacyjnego było stężenie substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) oznaczane w surowicy fluorymetryczną metodą Yagi [23] z tym, że do oznaczeń używano 100  $\mu$ l surowicy, a nie jak podano w metodzie oryginalnej — 20  $\mu$ l. Pomiary wykonano na spektrofluorymetrze Perkin-Elmer LS55 przy fali wzbudzenia 515 nm i fali emisji 555 nm. Aby poprawić specyficzność oznaczeń

wprowadzono kilka modyfikacji, polegających na: 1) dodaniu 3,5-diizobutylo-4-hydroksytoluenu (końcowe stężenie w mieszaninie reakcyjnej 5 mmol/dcm<sup>3</sup>), który zmniejsza artefakty wynikające z oksydacyjnego rozkładu lipidów zachodzącego w trakcie ogrzewania próbek z kwasem tiobarbiturowym [24]; 2) dodaniu siarczanu sodu (stężenie końcowe 100 mmol/dcm<sup>3</sup>) w celu wyeliminowania niespecyficznego kwasu tiobarbiturowego z obecnym w surowicy kwasem sjałowym [25]; 3) dodaniu wersenianu sodowego (stężenie końcowe 2,5 mmol/dcm<sup>3</sup>), który poprzez chelatowanie jonów żelaza obniża reaktywność innych niż dialdehyd malonowy aldehydów [25]. Stężenie TBARS odczytywano z krzywej zależności intensywności fluorescencji od stężenia dialdehydu malonowego powstającego w wyniku kwaśnej hydrolizy 1,1,3,3-tetraetoksypropanu [24].

Krew do badań genetycznych (1 ml) pobierano z żyły obwodowej w obecności koagulantu (EDTA), a następnie przechowywano w temp. –20°C. Genomowe DNA izolowano z leukocytów krwi metodą kolumnową (A&A Biotechnology). Ponadto badano polimorfizm Trp/Trp (zmiana tryptofanu na argininę w pozycji 64) genu receptora adrenergicznego (*ADRB3*). Do oznaczenia polimorfizmu użyto metody PCR oraz minisekwencjonowania (SNaPshot kit firmy Applied Biosystems). W pierwszym etapie amplifikowano fragment genu o wielkości 367 par zasad. Do amplifikacji użyto zestawu PCR Core Kit firmy QIAGEN oraz następującej sekwencji starterów:

Fw: 5'-TTCCTTCTTCCCTACCGCCC-3';

Rv: 5'-GCAGCCAGTGGCGCCCAACGG-3'

Reakcję amplifikacji przeprowadzono w następujących warunkach:

— denaturacja początkowa w 95°C przez 3 minuty

— 35 cykli:

- denaturacja 95°C przez 30 sekund;
- przyłączanie 55°C przez 45 sekund;
- wydłużanie 72°C przez 30 sekund.

— wydłużanie końcowe w 72°C przez 10 minut.

Minisekwencjonowanie polega na prowadzeniu reakcji PCR w obecności startera 5'-ATGGTCTG-GAGTCTCGGAGTCC-3' (tak zaprojektowanego, by kończył się jedną parą zasad przed miejscem polimorfizmu) oraz znakowanych fluorescencyjnie dideoksynukleotydów. W wyniku reakcji powstał produkt o jeden nukleotyd dłuższy od startera znakowany odpowiednim fluoroforem. Rozdział produktów prowadzono za pomocą Analizatora ABI 310 (Applied Biosystems). Do określenia wielkości produktów reakcji użyto programu GeneScan ver. 3.1.2 (Applied Biosystems).

Wszystkie badane poddano 30-minutowemu wysiłkowi fizycznemu na cykloergometrze Corival V<sub>2</sub> (Lode BV, NL) z prędkością 50–55 obr./min, przy obciążeniu na poziomie 30–50% należnego maksymalnego zużycia tlenu ( $VO_{2max}$ ) i przy współczynniku oddechowym

Tabela I

Porównanie parametrów antropometrycznych i biochemicznych w zależności od polimorfizmu ADRB3 u badanych kobiet

Table I

Comparison of anthropometric and metabolic parameters basing on polymorphism of ADRB3 among investigated women

	Trp <sup>64</sup> /Trp <sup>64</sup> (n=79)		Trp <sup>64</sup> /Arg <sup>64</sup> (n=15)		p*	Arg <sup>64</sup> /Arg <sup>64</sup> n=1
	Mean	SD	Mean	SD		
Wiek (lata)	55,3	2,9	56,1	3,0	ns	52
Nadciśnienie tętnicze [l. osób]	35 (44%)		5 (33%)		ns	0
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	28,0	4,5	28,4	6,3	ns	25,8
Tkanka tłuszczowa całkowita [%]	38,0	4,7	38,0	4,2	ns	38
Depozyt androidalny [%]	38,1	7,2	36,5	6,1	ns	32,3
Depozyt gynoidalny [%]	40,3	5,1	39,8	7,0	ns	42,6
Obwód tali [cm]	88,9	11,5	87,9	12,8	ns	79
Glukoza [mg/dl]	86,7	9,2	84,5	10,3	ns	82
Cholesterol całkowity [mg/dl]	238,3	41,4	236,4	39,1	ns	256
Triglicerydy [mg/dl]	114,0	56,1	140,3	64,1	ns	125
Cholesterol frakcji HDL [mg/dl]	67,0	16,9	60,9	11,9	ns	73
Cholesterol frakcji LDL [mg/dl]	148,4	34,8	148,2	38,3	ns	158
Insulina 0' [ $\mu$ IU/ml]	6,6	3,9	7,2	8,1	ns	4,3
TBARS 0' [ $\mu$ mol/l]	3,8	0,7	3,8	0,9	ns	4,4
Estradiol [pg/ml]	11,2	9,5	9,6	3,6	ns	9,3
FSH [IU/ml]	81,4	33,8	85,6	40,4	ns	76,5

\*p — w teście t-Studenta, ns:  $p > 0,05$ ; TBARS — stężenie substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym; SD (standard deviation) — odchylenie standardowe; BMI (body mass index) — wskaźnik masy ciała; FSH (follicle-stimulating hormone) — hormon folikulotropowy

RER (respiratory exchange ratio =  $VCO_2/VO_2$ ) na poziomie 0,7–0,75. Do redukcji masy ciała u osób otyłych proponuje się taki właśnie poziom intensywności, ponieważ procentowy udział wolnych kwasów tłuszczowych w pokrywaniu zapotrzebowania metabolicznego jest wtedy największy [26]. Należne  $VO_{2max}$  obliczano indywidualnie na podstawie wzoru Wassermana [27], natomiast wysiłkowe  $VO_2$  oceniano metodą kalorymetrii pośredniej przy użyciu spirometru CPFS/DTM USB z komputerowym programem analizy danych Breeze Siute 6.2 ATS/ERS z opcją VO 2000 (Medical Graphics Corp., USA).

Normalność rozkładu danych sprawdzono testem Shapiro-Wilka. Różnice między dwiema grupami analizowano przy użyciu parametrycznego testu t-Studenta. Pomiary powtarzane (stężenie TBARS) oceniano na podstawie analizy wariancji z opcją dla pomiarów powtarzanych (MANOVA). Poziom istotności statystycznej ustalono poniżej 0,05.

Badania przeprowadzono zgodnie z zasadami zawartymi w Deklaracji Helsińskiej, uzyskały akceptację Komisji Etycznej przy Akademii Medycznej we Wrocławiu, a wszystkie osoby wyraziły świadomą zgodę na udział w badaniach.

## Wyniki

Częstość występowania genotypu Trp<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> w badanej populacji wyniosła 15,8%, a genotypu Trp<sup>64</sup>/Trp<sup>64</sup> — 83,16%. Genotyp Arg<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> stwierdzono tylko u jednej osoby. Na podstawie prawa Hadry'ego i Weinberga obliczono częstość występowania poszczególnych alleli w badanej populacji. Częstość allelu Trp<sup>64</sup> wyniosła  $p = 0,91$ , a allelu Arg<sup>64</sup> —  $q = 0,09$  ( $p + q = 1$ ).

Charakterystykę poszczególnych grup kobiet przedstawiono w tabeli I. Kobiety z genotypem Trp<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> średnio miały wyższe stężenie triglicerydów i niższe stężenie cholesterolu frakcji HDL w surowicy w porównaniu z kobietami z genotypem Trp<sup>64</sup>/Trp<sup>64</sup>, jakkolwiek różnica ta nie była istotna statystycznie ( $p > 0,05$ ). Poza tym obie grupy nie różniły się żadnym z pozostałych parametrów biochemicznych. Genotyp nie miał także wpływu na parametry stresu oksydacyjnego. Podobnie w obu grupach, średnie wyjściowe stężenie substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) w surowicy zwiększało się istotnie ( $p < 0,05$ ) bezpośrednio po wysiłku i utrzymywało się na podwyższonym poziomie po 6 godzinach (tab. II).

Tabela II

Średnie stężenie substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) przed, bezpośrednio po i 6 godzin po teście wysiłkowym u kobiet z różnymi genotypami ADRB3 (pomiędzy TBARS 0' a TBARS bezpośrednio po teście i po 6 godzinach — różnica istotna statystycznie,  $p < 0,05$ )

Table II

Mean level of thiobarbituric-reactive substances (TBARS) before, direct after and 6 hours after endurance test in women with different genotypes of ADRB3 (between TBARS 0' and TBARS direct after and 6 hours after endurance test — statistically significant difference,  $p < 0.05$ )

	Trp <sup>64</sup> /Trp <sup>64</sup> (n=79)		Trp <sup>64</sup> /Arg <sup>64</sup> (n=15)		p*
	Mean	SD	Mean	SD	
TBARS 0' [ $\mu\text{mol/l}$ ]	3,8	0,7	3,8	0,9	ns
TBARS bezp. po teście [ $\mu\text{mol/l}$ ]	4,4	0,8	4,3	0,7	ns
TBARS 6 h po teście [ $\mu\text{mol/l}$ ]	4,2	0,6	4,4	0,8	ns

\*p — w MANOVA dla pomiarów powtarzanych; ns:  $p > 0,05$ ; TBARS — stężenie substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym; SD (standard deviation) — odchylenie standardowe

## Dyskusja

W tych pilotażowych badaniach nie stwierdzono, aby polimorfizm Trp<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> genu receptora  $\beta_3$ -adrenergicznego wiązał się z otyłością u kobiet po menopauzie. Wyniki niniejszego badania są zgodne z doniesieniami innych badaczy, którzy wykazali brak takiego związku [28]. Mimo że istnieją także przeciwstawne wyniki badań, potwierdzające związek otyłości z występowaniem wspomnianego polimorfizmu w populacji dzieci w wieku szkolnym [29, 30]. Zaobserwowano natomiast niewielką różnicę (choć nieistotną statystycznie) w średnich stężeniach triglicerydów i cholesterolu frakcji HDL między grupą kobiet z genotypem Trp<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> a grupą kobiet z genotypem Trp<sup>64</sup>/Trp<sup>64</sup> na niekorzyść tej pierwszej. Tendencja ta wskazuje być może na związek polimorfizmu Trp<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> z parametrami zespołu metabolicznego, jednak hipoteza ta wymaga potwierdzenia w większej grupie badanych. Przypuszczenia te są zgodne z doniesieniami innych autorów, którzy wykazali, że osoby z polimorfizmem Trp<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> mają nieprawidłowy profil lipidowy i trudności w zmniejszeniu masy ciała [30, 31]. Stwierdzone w niniejszym badaniu częstości poszczególnych genotypów są podobne jak w badaniach innych autorów. W opracowaniu Okumura i wsp. [32] genotyp Trp<sup>64</sup>/Trp<sup>64</sup> wystąpił u 71% badanych Japończyków, genotyp Trp<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> u 22,1%, a genotyp Arg<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> u 6% badanych. Częstości alleli we wspomnianym badaniu wynosiły 0,82 dla Trp<sup>64</sup> i 0,18 dla Arg<sup>64</sup>.

Na podstawie wyników niniejszych badań autorzy nie stwierdzili także, aby polimorfizm Trp<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> genu receptora  $\beta_3$ -adrenergicznego wpływał na parametry stresu oksydacyjnego po wysiłku fizycznym. Wynika to najprawdopodobniej z faktu, że kobiety z poszczególnymi genotypami nie różniły się pod względem cech

antropometrycznych, które mogłyby mieć wpływ na nasilenie stresu oksydacyjnego.

## Wnioski

1. Polimorfizm Trp<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> receptora  $\beta_3$ -adrenergicznego prawdopodobnie wiąże się z występowaniem zaburzeń lipidowych charakterystycznych dla zespołu metabolicznego u kobiet pomenopauzalnych, jednak problem ten wymaga wyjaśnienia w większej grupie badanych.
2. Polimorfizm Trp<sup>64</sup>/Arg<sup>64</sup> receptora  $\beta_3$ -adrenergicznego nie wpływa na nasilenie stresu oksydacyjnego po standaryzowanym wysiłku fizycznym u kobiet po menopauzie.

## Piśmiennictwo

1. Gleim GW, Glace BW. Energy balance and weight control (male and female). W: Warren PM, Constantini NW. Sports Endocrinology, Human Press Inc, Totowa, NJ, 2000; 189–205.
2. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. Diabetes 1988; 37: 1595–1567.
3. Hubert HB, Fenileb M, McNamara PM i wsp. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham heart study. Circulation 1983; 67: 968–977.
4. Larsson B, Swardsudd K, Welin L i wsp. Abdominal adipose tissue distribution, obesity and risk of cardiovascular disease and death: 13-year follow-up of participants in the study of men born in 1913. Br Med J 1984; 288: 1401–1404.
5. Large V, Hellstrom L, Reynisdottir S i wsp. Human beta2 adrenoreceptor gene polymorphisms are highly frequent in obesity and associate with alterate adipocyte beta2 adrenoreceptor function. J Clin Invest 1997; 100: 3005–3013.
6. Dallongeville J, Helbecque N, Cottel D i wsp. The Gly16-Arg16 and Gln27-Glu27 Polymorphism of B2-adrenergic receptor are associated with metabolic syndrome in men. J Clin Endocrinol Metab 2003; 88: 4862–4866.
7. Meirensaeghe A, Luan J, Selberg-Franks P i wsp. The effect of the Gly16Arg polymorphism of the beta2 adrenergic receptor

- gene on plasma free fatty acid levels is modulated by physical activity. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5881–5887.
8. Hoffstedt J, Shimizu M, Sjostedt S i wsp. Determination of beta3-adrenoreceptor mediated lipolysis in human fat cells. *Obes Res* 1995; 3: 447–457.
  9. Revelli JP, Preitner F, Samec S i wsp. Targeted gene disruption reveals a leptin independent role for the mouse beta3 adrenoreceptor in the regulation of body composition. *J Clin Invest* 1997; 100: 1098–1106.
  10. Clement K, Ruiz J, Cassard-Doulier AM i wsp. Additive effect of A-G (-3826) variant of the uncoupling protein gene and the Trp64Arg mutation of the beta3 adrenergic receptor gene on weight gain in morbid obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996; 20: 1062–1066.
  11. Clement K, Vaisse C, Manning BS i wsp. Genetic variation in the beta3 adrenergic receptor and an increased capacity to gain weight in patients with morbid obesity. *N Engl J Med* 1995; 333: 322–354.
  12. Walston J, Silver K, Bogardus C i wsp. Time of onset of non-insulin-dependent diabetes mellitus and genetic variation in the beta3 adrenergic receptor gene. *N Engl J Med* 1995; 333: 343–347.
  13. Widen E, Lehto M, Kanninen T i wsp. Association of a polymorphism in the beta3 adrenergic receptor gene with features of the insulin resistance syndrome in Finns. *N Engl J Med* 1995; 333: 348–351.
  14. Shima Y, Tsukada T, Nakanishi K i wsp. Association of the Trp64Arg mutation of the beta3-adrenergic receptor with fatty liver and mild glucose intolerance in Japanese subjects. *Clin Chim Acta* 1998; 274: 167–176.
  15. Fujisawa T, Ikegami H, Kawaguchi Y i wsp. Meta-analysis of the association of Trp64Arg polymorphism of beta3-adrenergic receptor gene with body mass index. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2441–2444.
  16. Mitchell BD, Blangero J, Comuzzie AG i wsp. A paired sibling analysis of the beta3 adrenergic receptor and obesity in Mexican Americans. *J Clin Invest* 1998; 101: 584–587.
  17. Mitchell BD, Cole SA, Comuzzie AG. A quantitative trait locus influencing BMI maps to the region of the beta3-adrenergic receptor. *Diabetes* 1999; 48: 1863–1867.
  18. Gagnon J, Mauriege P, Roy S i wsp. The Trp64Arg mutation of the beta3 adrenergic receptor gene has no effect on obesity phenotypes in the Quebec Family Study and Swedish Obese Subjects cohorts. *J Clin Invest* 1996; 98: 2086–2093.
  19. Garcia Rubi E, Calles-Escandon J. Insulin resistance and type 2 Diabetes Mellitus: its relationship with the beta3 adrenergic receptor. *Endocrinol Diab* 1999; 30: 459–464.
  20. Urakawa H, Katsuki A, Sumida Y i wsp. Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 4673–4676.
  21. Dandona P, Mohanty P, Ghanim H i wsp. The suppressive effect of dietary restriction and weight loss in the obese on the generation of reactive oxygen species by leukocytes, lipid peroxidation and protein carbonylation. *J Clin Endocrinol* 2003; 86: 355–362.
  22. Williams IL, Wheatcroft SB, Shah AM i wsp. Obesity, atherosclerosis and the vascular endothelium: mechanism of reduced nitric oxide bioavailability in obese humans. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002; 26: 754–764.
  23. Yagi K. Lipid peroxides and human diseases. *Chem Phys Lipids* 1987; 366: 1–15.
  24. Jentzsch AM, Bachmann H, Fürst P i wsp. Improved analysis malondialdehyde in human body fluids. *Free Radic Biol Med* 1996; 20: 251–256.
  25. Lapenna D, Ciofani G, Pierdomenico SD i wsp. Reaction conditions affecting the relationship between thiobarbituric acid reactivity and lipid peroxides in human plasma. *Free Radic Biol Med* 2001; 31: 331–335.
  26. Thamer C, Machann J, Bachmann O i wsp. Intramyocellular lipids: antropometric determinants and relationships with maximal aerobic capacity and insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1785–1791.
  27. Wasserman K, Hansen JE, Sue DY i wsp. Principles of exercise testing and interpretation. Lea & Febiger, Philadelphia 1987; 73.
  28. Matsushita H, Kurabayashi T, Tomita M i wsp. Effects of uncoupling protein 1 and beta3-adrenergic receptor gene polymorphisms on body size and serum lipid concentrations in Japanese women. *Maturitas* 2003; 45: 39–45.
  29. Endo K, Yanagi H, Hirano C i wsp. Association of Trp64Arg polymorphism of the beta3-adrenergic receptor gene and no association of Gln223Arg polymorphism of the leptin receptor gene in Japanese schoolchildren with obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000; 24: 443–449.
  30. Arashiro R, Katsuren K, Fukuyama S i wsp. Effect of Trp64Arg mutation of the beta3-adrenergic receptor gene and C161T substitution of the peroxisome proliferator activated receptor gamma gene polymorphism of the leptin receptor gene in Japanese children. *Pediatr Int* 2003; 45: 135–141.
  31. Shiwaku K, Nogi A, Anuurad E i wsp. Difficulty in losing weight by behavioral intervention for women with Trp64Arg polymorphism of the beta3-adrenergic receptor gene. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003; 27: 1028–1036.
  32. Okumura K, Matsui H, Ogawa Y i wsp. The polymorphism of the beta3-adrenergic receptor gene is associated with reduced low-density lipoprotein particle size. *Metabolism* 2003; 52: 356–361.