

Małgorzata Gacka¹, Tadeusz Dobosz², Stanisław Szymaniec³,
Dorota Bednarska-Chabowska¹, Arleta Lebioda², Rajmund Adamiec¹

PRACA ORYGINALNA

¹Katedra i Klinika Angiologii, Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii, Akademia Medyczna we Wrocławiu

²Zakład Techniki Molekularnych Katedry Medycyny Sądowej, Akademia Medyczna we Wrocławiu

³Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu

Ocena wpływu agonisty receptora PPAR γ na wartości ciśnienia tętniczego u chorych na cukrzycę typu 2 w zależności od polimorfizmu Pro12Ala genu receptora PPAR γ . Doniesienie wstępne

Influence of PPAR γ agonists and polymorphism Pro12 Ala on blood pressure values in patients with type 2 diabetes. Initial coverage

Summary

Background PPAR γ is a transcription factor with wide spectrum activity. Its expression disorders, connected with polymorphic variants, are responsible for obesity, insulin resistance and also hypertension.

The aim of this study was to assess the influence of PPAR γ agonist (rosiglitazone) and polymorphism Pro12Ala of this receptor on blood pressure values in type 2 diabetes

Material and methods In 45 patients, who were treated with sulfonylurea and metformin with inadequate metabolic control and insulin resistance, rosiglitazone 4 mg per day was administered. Polymorphism Pro12Ala was estimated [SnaPshot; ABI PRISM310]. In 45 patients with type 2 diabetes before and following 22 weeks of rosiglitazone therapy blood pressure values were estimated (mean of three measurements). Other tests were conducted using routine lab tests.

Results A heterozygous genotype Pro12Ala was found in 12 patients and a homozygous genotype Pro12Pro in 33

patients. Following rosiglitazone therapy a statistically significant downward tendency of systolic blood pressure values was noted (before: 145.35 ± 20.25 mm Hg *vs.* after: 139.40 ± 15.39 mm Hg; $p < 0.045$). A downward tendency of diastolic blood pressure values was observed as well, but it did not achieve significance level (before: 86.37 ± 10.77 *vs.* after: 83.73 ± 10.19 [mm Hg]; $p = 0.170$).

Blood pressure reduction was noted only in patients with genotype Pro12Ala PPAR γ ($p < 0.023$). A statistically significant downward tendency of blood pressure was not noted in patients with Pro12Pro genotype ($p = 0.307$).

Conclusions 1. Exogenous stimulation of PPAR γ receptor is connected with statistically significant downward tendency of systolic blood pressure values. 2. Hypotensive effect of rosiglitazone appears first in all patients with Pro12Ala genotype.

key words: Pro12Ala polymorphism, PPAR γ , hypertension, type 2 diabetes, rosiglitazone

Arterial Hypertension 2007, vol. 11, no 3, pages 215–222.

Adres do korespondencji: dr med. Małgorzata Gacka
Katedra i Klinika Angiologii,
Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii AM
ul. Poniatowskiego 2, 50–326 Wrocław
e-mail: magacka@poczta.onet.pl

 Copyright © 2007 Via Medica, ISSN 1428–5851

Wstęp

Wraz ze zmianą stylu życia związaną z rozwojem cywilizacji obserwuje się gwałtowny wzrost zach-

rowania na cukrzycę typu 2. W tej grupie pacjentów istotnym problemem terapeutycznym, społecznym i ekonomicznym jest rozwój powikłań naczyniowych. Wysokie ryzyko chorób sercowo-naczyniowych jest wynikiem nie tylko zaburzeń gospodarki węglowodanowej, ale również współistniejącego z chorobą podstawową nadciśnienia tętniczego. Szacuje się, że nadciśnienie tętnicze jest rozpoznawane równocześnie z cukrzycą typu 2 u prawie 50% chorych [1]. Z drugiej strony godnym podkreślenia jest fakt, że właśnie interwencje zmierzające do obniżenia ciśnienia tętniczego istotnie zmniejszają rozwój ostrych i przewlekłych angiopatii cukrzycowych [2].

Z tego względu sprawą szczególnie ważną jest optymalizacja terapii pacjentów z cukrzycą typu 2, uwzględniająca zwłaszcza te leki, które oprócz działania przeciwcukrzycowego korzystnie wpływają na wartości ciśnienia tętniczego. Do takich preparatów należą tiazolidinediony, będące agonistami receptora PPAR γ . W wielu pracach potwierdzono hipotensyjny efekt działania tej grupy leków [3–6].

Aktualnie zwraca się uwagę na obecność mutacji receptora PPAR γ , które już na poziomie genu, obok ciężkiej insulinooporności i cukrzycy, mogą również warunkować nadciśnienie tętnicze. Przykładowo substytucja cytozyny na tyminę, prowadząca do zapisania leucyny zamiast proliny w kodonie 467 (Pro467Leu) czy guaniny na adeninę, zmieniająca walinę na metioninę w kodonie 290 (Val290Met) powoduje ujawnienie się nadciśnienia tętniczego w młodym wieku, opornego na terapię hipotensyjną, a u kobiet w ciąży predysponującego do stanów przedrzucawkowych [7].

Powstaje zatem pytanie, w jakim stopniu ekspresja receptora PPAR γ może wpływać na wartości ciśnienia tętniczego u chorych z zespołem insulinooporności w przebiegu cukrzycy typu 2, uwzględniając jednocześnie: a) możliwość modulacji aktywności receptora PPAR γ pod wpływem jego egzogennej agonisty oraz b) wpływ uwarunkowania genetycznego, związanego zwłaszcza z powszechnie występującym polimorfizmem Pro12Ala PPAR γ .

Celem pracy była ocena wpływu agonisty receptora PPAR γ (roziglitazonu) na wartości ciśnienia tętniczego u chorych na cukrzycę typu 2 z towarzyszącym zespołem insulinooporności w zależności od polimorfizmu Pro12Ala receptora PPAR γ .

Material i metody

Program badań uzyskał akceptację Komisji Bioetycznej Akademii Medycznej we Wrocławiu. Od wszystkich pacjentów uzyskano pisemną, świadomą zgodę na udział w badaniu.

Badaniami objęto 45 (21 kobiet i 24 mężczyzn) chorych na cukrzycę typu 2 i z nadciśnieniem tętniczym, w wieku 44–65 lat (śr. wieku $57,1 \pm 7,8$ roku), gdzie średni czas trwania choroby wynosił $6,4 \pm 6,2$ lat.

Nadciśnienie tętnicze kontrolowano tkankowym inhibitorem enzymu konwertującego angiotensynę (82% pacjentów), diuretykiem (69% pacjentów), lekiem β -adrenolitycznym (22% pacjentów), α 1-blokerem (13% pacjentów) oraz pochodną dihydropirydonową antagonisty wapnia (13% pacjentów). Monoterapię hipotensyjną kontynuowało zaledwie 31% chorych.

Do dotychczasowej, doustnej terapii przeciwcukrzycowej (metformina i/lub pochodna sulfonilomocznika i/lub akarboza), u wszystkich pacjentów dołączono roziglitazon w dawce 4 mg/dobę *p.o.* (Avandia[®] firmy GlaxoSmithKline) przez 22 tygodnie.

Wszyscy chorzy przyjmowali kwas acetylosalicylowy w dawce 75 mg/d.

U wszystkich badanych dokonano pomiarów antropometrycznych i pomiaru ciśnienia tętniczego przed i po leczeniu (średnia z 3 pomiarów w pozycji siedzącej po 15-minutowym odpoczynku).

W celu oznaczenia polimorfizmu Pro12Ala genu receptora PPAR γ jednorazowo izolowano monocytę z krwi żyłnej.

Metoda izolacji monocytów

Do izolacji monocytów pobierano 15 ml krwi żyłnej z dodatkiem heparyny (1 ml heparyny na 10 ml krwi). Wstępną izolację limfocytów od granulocytów i erytrocytów uzyskano, dodając na każde 1,5 ml krwi 1,5 ml Histopaque [HISTOPAQUE[®]-1077 HybridMax[®] (Nr H8889 — firma Sigma)] i następnie wirując przez 30 minut, przy 1970 g/minutę i w temperaturze 37°C. Po odwirowaniu do zebranego pierścienia limfocytów dodawano 40 ml *Hank's Balanced Salt Solutions* i 3-krotnie wirowano (5 min, 2550 g/min). Do otrzymanych komórek dodawano 2 mmol kwasu etylenodiaminotetraoctowego (EDTA, *ethylene diamine tetraacetic acid*) oraz bufor fosforanowy (PBS, *phosphate buffered saline*) (pH = 7,2), dopełniając do 10 ml i ponownie wirowano (5 min, 2200 g/min). Ponownie do uzyskanego osadu komórek dodawano 2 mmol EDTA oraz PBS (pH = 7,2), dopełniając do 10 ml i wirowano (5 min, 2200 g/min). Do uzyskanego osadu komórek w buforze 30 μ l (odgazowany bufor: PBS + EDTA + BSA), w temperaturze 4–8°C dodawano 10 μ g FcR *Blocking Reagent* oraz 10 ml *Biotin-Antibody Cocktail*. Po zmieszaniu i inkubacji (5 min, temp. 6–12°C) przemywano buforem, dodając 10–20 razy większą objętość. Po odwirowaniu odlewano roztwór nad osadem. Następnie zawieszano osad komórek w buforze do 30 μ l

i dodawano ponownie 10 μ g FcR *Blocking Reagent* oraz 10 ml MACS *Anti-Hapten Microbeads*. Po zmieszaniu i inkubacji (5 min, temp. 6–12°C) przemywano buforem, dodając 10–20 razy większą objętość. Po odwirowaniu odlewano roztwór nad osadem i zawieszano osad komórek w 500 μ l buforu. Po przepłukaniu kolumny LS VarioMacs (firma Miltenyi Biotec) w separatorze 3 ml buforu, 2-krotnie nanoszono zawiesinę komórek na kolumnę. Za pomocą izolacji magnetycznej uzyskiwano rozdział monocytów od innych komórek jednojądrzastych, poprzez wiązanie innych niż monocytów komórek na kolumnach przez specyficzne przeciwciała i receptory. Czystość izolacji sprawdzano immunofluorescencyjnie z użyciem przeciwciała CD14-FITC. Wyizolowane monocytów odwirowywano i zamrażano.

Metoda oznaczania polimorfizmu Pro12Ala

Za pomocą negatywnej izolacji magnetycznej na kolumnach LS VarioMacs (firma Miltenyi Biotec) uzyskano rozdział monocytów od innych komórek jednojądrzastych. Z 1 μ l zawiesiny monocytów izolowano DNA przy użyciu żywicy jonowymienniej Chelex 100 (SIGMA). Amplifikację fragmentów DNA obejmujących oznaczane polimorfizmy typu SNP przeprowadzono przy użyciu zestawu odczynników QIAGEN PCR *Multiplex Kit* (QIAGEN). Używano następujących par starterów: PPARG P12A F5'-ACT CTG GGA GAT TCT CCT ATT GAC-3' PPARG P12A R5'-ACC CTT CAA GTC TAA AAA GCC CT-3'. Miejsca polimorficzne oznaczano na dwóch niciach DNA techniką minisekwencjonowania, wykorzystując *SnaPshot Multiplex Kit* (Applied Biosystems). Pro12Ala oznaczano tetrapleksowo w reakcji ze starterami: 4135303 SNP F 5'-TTA ATG CTT AGC TCG TTG-3' 4135303 SNP R 5'-AGG TTC TGA ACA TGT TTT TAA ATG AAC GCG ATA-3' P12A SNP F5'-(gact)₄ACT CTG GGA GAT TCT CCT ATT GAC-3' P12A SNP R5'-(gact)₆TGT ATC AGT GAA GGA ATC GCT TTC TG-3'. Rozdział i detekcję produktów reakcji przeprowadzono podczas elektroforezy na kapilarnym analizatorze genetycznym ABI Prism 310 *Genetic Analyzer* (Applied Biosystems). Wyniki analizowano wobec wewnętrznego wzorca wielkości LIZ-120, korzystając z programu *Analysis Software* v.3.1.2.

Pozostałe badania

Pozostałe badania (HbA_{1c}, gospodarka lipidowa, ciśnienie tętnicze, wskaźnik masy ciała [BMI, *body mass index*], stosunek obwodu talii do bioder [WHR, *waist to hip ratio*] oznaczano rutynowymi metodami laboratoryjnymi. Insulinooporność oznaczano wskaźnikiem oceny modelu homeostazy oporności na insulinę (HOMA-IR, *homeostasis model assessment of insulin resistance*).

Opracowanie statystyczne wyników

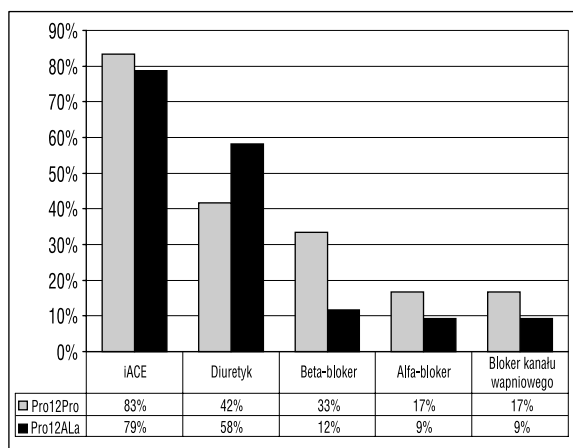
Dla wszystkich testów przyjęto poziom istotności p poniżej 0,05. Dane przedstawiono jako średnią \pm odchylenie standardowe. Do weryfikacji normalności rozkładu cech wykorzystano test W Shapiro-Wilk. Do oceny różnic rozkładu cech między podgrupami stosowano test t dla prób niezależnych oraz test Wilcoxon, natomiast w celu porównania cech przed i po leczeniu użyto testu t dla prób zależnych (*paired t-test*) i testu Wilcoxon dla sumy rang. Siłę współzależności dwóch zmiennych o rozkładzie normalnym wyrażano współczynnikiem liniowym Pearsona, a istotność za pomocą wartości statystyki t . Dla cech niewykazujących rozkładu normalnego wykorzystano współczynnik korelacji Spearmana. Wpływ dodatkowych czynników (m.in. współlistniejąca terapia) na wartości ciśnienia tętniczego w zależności od ustalonego genotypu analizowano testem ANOVA.

Wyniki

W grupie chorych na cukrzycę typu 2 nie wykazano obecności homozygotycznego genotypu Ala12Ala. U 27% osób stwierdzono wariant heterozygotyczny Pro12Ala genu PPAR γ — te osoby włączono do grupy I. Natomiast 73% osób z ustalonym homozygotycznym genotypem Pro12Pro analizowanego genu stanowiły grupę II.

Programy farmakologicznej kontroli nadciśnienia tętniczego u chorych z określonym genotypem Pro12Pro oraz Pro12Ala receptora PPAR γ przedstawiono na rycinie 1.

Przed leczeniem stwierdzono, że pacjenci z potwierdzonym zmutowanym allelem Ala charaktery-



Rycina 1. Programy terapii nadciśnienia tętniczego u chorych z ustalonym genotypem Pro12Pro oraz Pro12Ala receptora PPAR γ

Figure 1. Hypotensive therapy in patients with Pro12Pro and Pro12Ala genotype of PPAR γ

Tabela I. Ocena porównawcza wyników badań analizowanych grup w zależności od ustalonego genotypu
Table I. Comparison of results tests between Pro12Ala group and Pro12Pro group

	Grupa I Pro12Ala (n = 12)			Grupa II Pro12Pro (n = 33)		
	Przed leczeniem	Po leczeniu	Istotność Różnic	Przed leczeniem	Po leczeniu	Istotność różnic
	Średnia ± SD	Średnia ± SD		Średnia ± SD	Średnia ± SD	
BMI [kg/m ²]	32,79 ± 4,16	32,27 ± 4,24	0,414	32,00 ± 5,80	32,32 ± 5,43	0,272
WHR	0,942 ± 0,07	0,931 ± 0,07	0,578	0,950 ± 0,07	0,964 ± 0,09	0,305
Ciśnienie skurczowe [mm Hg]	151,25 ± 16,80	141,58 ± 14,84	< 0,023	145,91 ± 21,48	144,06 ± 15,76	0,307
Ciśnienie rozkurczowe [mm Hg]	88,33 ± 8,33	82,92 ± 10,54	0,172	85,64 ± 11,56	84,03 ± 10,21	0,440
Glikemia na czczo [mmol/ml]	8,26 ± 1,64	8,06 ± 1,50	0,703	7,92 ± 2,62	7,95 ± 2,83	0,997
Glikemia w 2 h OGTT [mmol/ml]	15,05 ± 4,09	14,67 ± 5,31	0,919	13,02 ± 4,43	10,72 ± 3,59	< 0,004
HbA _{1c} (%)	8,50 ± 1,99	6,54 ± 0,91	< 0,015	6,89 ± 1,47	6,75 ± 1,07	0,618
Insulinemia na czczo [uU/ml]	12,69 ± 9,18	11,07 ± 4,32	0,495	13,15 ± 6,65	13,97 ± 7,98	0,579
Insulina w 2h OGTT [uU/ml]	44,93 ± 29,00	34,74 ± 18,07	0,110	69,36 ± 69,38	46,48 ± 25,61	< 0,028
HOMA-IR	4,77 ± 3,71	3,90 ± 1,56	0,292	4,64 ± 4,87	4,88 ± 3,50	0,580
Cholesterol nie-HDL [mg/dl]	161,85 ± 37,66	184,43 ± 55,97	0,219	158,86 ± 44,13	181,26 ± 84,53	0,096
Cholesterol frakcji HDL [mg/dl]	45,11 ± 5,79	41,02 ± 8,90	0,183	42,10 ± 10,65	42,45 ± 13,96	0,710
Triglicerydy [mg/dl]	241,35 ± 114,87	229,62 ± 105,73	0,515	240,25 ± 171,56	278,01 ± 255,42	0,132
Kwas moczowy [mg/dl]	5,18 ± 1,19	6,24 ± 1,62	< 0,003	5,21 ± 1,57	5,16 ± 1,84	0,834
Fibrynogen [g/l]	3,19 ± 0,39	3,05 ± 0,26	0,262	3,25 ± 0,70	2,90 ± 0,48	< 0,001

SD (standard deviation) — odchylenie standardowe; BMI (body mass index) — wskaźnik masy ciała; WHR (waist to hip ratio) — stosunek obwodu talii do bioder; OGTT (oral glucose tolerance test) — doustny test obciążenia glukozą

zują się gorszym wyrównaniem metabolicznym cukrzycy niż chorzy z genotypem Pro12Pro [HbA_{1c} (%): Pro12Ala 8,50 ± 1,99 *vs.* Pro12Pro 6,89 ± 1,47; *p* < 0,008]. Nie wykazano istotnych różnic między grupami dla pozostałych parametrów (tab. I).

Po zastosowanej terapii rozigitazonem stwierdzono istotne statystycznie obniżenie ciśnienia skurczowego [przed terapią 148,07 ± 20,25 *vs.* po leczeniu 143,40 ± 15,40 (mm Hg); *p* = 0,045], bez znamienych zmian ciśnienia rozkurczowego [przed leczeniem: 86,37 ± 10,77 *vs.* po leczeniu: 83,73 ± 10,19 (mm Hg); *p* = 0,170] (tab. II).

Ponadto zaobserwowano znamienne zmniejszenie stężenia HbA_{1c} [7,32 ± 1,76 *vs.* 6,69 ± 1,02 (%); *p* = 0,040], glikemii w 2. godzinie doustnego testu obciążenia glukozą (OGTT, *oral glucose tolerance test*) [13,32 ± 4,48 *vs.* 11,68 ± 4,40 (mmol/l); *p* = 0,037] i insulinemii w 2. godzinie OGTT [66,92 ± 66,24 *vs.* 43,99 ± 24,34 (mmol/l); *p* = 0,013] oraz zwiększenie stężenia cholesterolu frakcji nie-HDL [159,63 ± 42,16 *vs.* 178,10 ± 76,78 (mg/dl); *p* = 0,047]. Zmiany stężenia fibrynogenu pozostawały w zakresie referencyjnych norm laboratoryjnych [3,24 ± 0,64 *vs.* 2,94 ± 0,46 (g/l); *p* = 0,001]. Nie wykazano ko-

relacji wartości ciśnienia tętniczego z parametrami gospodarki węglowodanowej i lipidowej (*p* > 0,05).

Uwzględniając posiadany genotyp badanych pacjentów stwierdzono znamienne obniżenie ciśnienia tętniczego skurczowego jedynie w grupie I [przed terapią 151,25 ± 16,80 *vs.* po leczeniu 141,58 ± 14,84 (mm Hg); *p* = 0,023], bez znamienych zmian ciśnienia rozkurczowego [przed leczeniem: 86,37 ± 10,77 *vs.* po leczeniu: 83,73 ± 10,19 (mm Hg); *p* = 0,170] (tab. 1). U pacjentów z genotypem Pro12Pro zmniejszenie ciśnienia tętniczego nie osiągnęło znamienności statystycznej [ciśnienie tętnicze skurczowe: przed terapią 145,91 ± 21,48 *vs.* po leczeniu 144,06 ± 15,76 (mm Hg); *p* = 0,307/ciśnienie tętnicze rozkurczowe: przed terapią 85,64 ± 11,56 *vs.* po leczeniu 84,03 ± 10,21 (mm Hg); *p* = 0,440]. Nie wykazano, aby pod wpływem rozigitazonu, uwzględniając analizowany polimorfizm, odsetkowe zmniejszenie ciśnienia tętniczego skurczowego czy rozkurczowego w jakikolwiek sposób zależało od grup leków stanowiących podstawowy program terapii hipotensyjnej (w teście ANOVA *p* > 0,05).

Ponadto stwierdzono następujące różnice analizowanych parametrów między grupami w odpowie-

Tabela II. Zestawienie klinicznych i laboratoryjnych wyników badań chorych na cukrzycę typu 2 przed i po leczeniu roziglitazonem**Table II.** Results before and following rosiglitazone therapy in patients with type 2 diabetes

Analizowane parametry n = 45	Przed leczeniem	Po leczeniu	Istotność różnic
	Średnia \pm SD	Średnia \pm SD	
BMI [kg/m ²]	32,21 \pm 5,38	32,31 \pm 5,09	0,724
WHR	0,948 \pm 0,07	0,955 \pm 0,09	0,512
Ciśnienie skurczowe [mm Hg]	148,07 \pm 20,25	143,40 \pm 15,40	0,045
Ciśnienie rozkurczowe [mm Hg]	86,37 \pm 10,77	83,73 \pm 10,19	0,170
Glikemia na czczo [mmol/ml]	8,15 \pm 2,51	7,76 \pm 2,23	0,351
Glikemia w 2h OGTT [mmol/ml]	13,32 \pm 4,48	11,68 \pm 4,40	0,037
HbA _{1c} (%)	7,32 \pm 1,76	6,69 \pm 1,02	0,040
Insulina na czczo [uU/ml]	13,29 \pm 7,37	12,73 \pm 6,50	0,993
Insulina w 2 h OGTT [uU/ml]	66,92 \pm 66,24	43,99 \pm 24,34	0,013
HOMA-IR	4,88 \pm 3,35	4,43 \pm 3,10	0,332
Cholesterol frakcji nie-HDL [mg/dl]	159,63 \pm 42,16	178,10 \pm 76,78	0,047
Cholesterol frakcji HDL [mg/dl]	42,87 \pm 9,67	42,43 \pm 12,88	0,791
Triglicerydy [mg/dl]	240,54 \pm 157,15	265,11 \pm 225,19	0,196
Kwas moczowy [mg/dl]	5,20 \pm 1,46	5,45 \pm 1,83	0,282
Fibrynogen [g/l]	3,24 \pm 0,64	2,94 \pm 0,46	0,001
Albuminuria [mg/dobę]	204,51 \pm 259,12	251,73 \pm 290,13	0,589

n — liczba pacjentów; SD (*standard deviation*) — odchylenie standardowe; BMI (*body mass index*) — wskaźnik masy ciała; WHR (*waist to hip ratio*) — stosunek obwodu talii do bioder; OGTT (*oral glucose tolerance test*) — doustny test obciążenia glukozą

dzi na roziglitazon: jedynie u pacjentów ze zmuto-
wanym allelem obserwowano obniżenie stężenia he-
moglobiny glikowanej [8,50 \pm 1,99 *vs.* 6,54 \pm 0,91
(%); $p < 0,015$] oraz nieznaczne podwyższenie stężenia
kwasu moczowego w granicach normy laboratoryj-
nej [5,18 \pm 1,19 *vs.* 6,24 \pm 1,62 (mg/dl); $p = 0,003$].
Natomiast tylko u chorych posiadających homozy-
gotyczny „dziki” genotyp Pro12Pro wykazano obni-
żenie poposiłkowej glikemii [13,02 \pm 4,43 *vs.* 10,72 \pm
3,59 (mmol/l); $p < 0,004$] oraz insulinemii [69,36 \pm
69,38 *vs.* 46,48 \pm 25,61 (μ j./ml); $p < 0,028$]. Zmiany
stężenia fibrynogenu pozostawały w zakresie refe-
rencyjnych norm laboratoryjnych [3,25 \pm 0,70 *vs.*
2,90 \pm 0,48 (mg/dl); $p < 0,001$] (tab. 1).

Dyskusja

Receptor PPAR γ jest kluczowym czynnikiem trans-
krypcyjnym kontrolującym przemiany metaboliczne
ustroju. W ostatnich latach stwierdzono, że jego akty-
wacja za pomocą tiazolidinedionów, nie tylko obniża
glikemię wraz z poprawą insulinowrażliwości tkanek,
ale również obniża ciśnienie tętnicze. Przykładowo
Derosa i wsp. [4] u chorych na cukrzycę podczas 12-mie-

siężnej obserwacji wykazali spadek średniego ciśnie-
nia tętniczego skurczowego o ponad 4 mm Hg, a roz-
kurczowego o 3 mm Hg. Natomiast Yosefy i wsp. [5]
już po 8 tygodniach terapii roziglitazonem stwierdzili
istotne obniżenie ciśnienia tętniczego skurczowego
(średnio o 6 mm Hg) wraz z rozkurczowym (średnio
o 4 mm Hg). Takiego korzystnego efektu nie obser-
wowano u chorych przyjmujących glibenklamid [5].
Cenne są również wyniki badania PROactive, gdzie
w ciągu 3 lat obserwacji zanotowano znamienne ob-
niżenie ciśnienia tętniczego o 3 mm Hg [6].

Własne rezultaty terapii roziglitazonem nie są zu-
pełnie różne od wyników przedstawionych powyżej
— po 22-tygodniowym leczeniu uzyskano obniże-
nie średnio prawie o 4 mm Hg ciśnienia tętniczego
skurczowego i prawie o 2 mm Hg ciśnienia tętnicze-
go rozkurczowego.

Warto podkreślić, że również u pacjentów z niepra-
widłową tolerancją glukozy (IGT, *impaired glucose
tolerance*) terapia roziglitazonem wiązała się
z istotnym obniżeniem ciśnienia tętniczego. Bennett
i wsp. [8] podczas 12-tygodniowej terapii roziglita-
zonem u tych chorych obserwowali spadek ciśnienia
tętniczego skurczowego o 10 mm Hg, a rozkurczo-
wego o 8 mm Hg.

W większości publikacji sugeruje się, że efekt hipotensyjny tiazolidinedionów zależy od ich wpływu na insulinowrażliwość, hamując niekorzystne działania insuliny (m.in. blokują układ współczulny, retencję sodu w nerkach, mitogenezę komórek mięśnia sercowego oraz komórek mięśni ściany naczyniowej [3]). Analiza własnych wyników sugeruje obecność dodatkowych mechanizmów, bowiem pomimo istotnego zmniejszenia ciśnienia tętniczego skurczowego nie wykazano znamiennej obniżenia wskaźnika insulinooporności HOMA-IR, a także korelacji między tymi parametrami. Podobne dane uzyskali Negro i wsp. [9]. Warto dodać, że we wspomnianej pracy osiągnięto spadek ciśnienia tętniczego w godzinach nocnych u chorych bez zachowanego, fizjologicznego rytmu dobowego (*non-dippers*), co dodatkowo może wpływać na obniżenie ryzyka sercowo-naczyniowego. Ważnym badaniem *in vivo*, potwierdzającym niezależny od poprawy insulinowrażliwości efekt kontroli ciśnienia tętniczego przez receptor PPAR γ jest opracowanie Yau-Sheng i wsp. [10]. Tworząc model genetycznie zmodyfikowanych myszy o genotypie Pro465Leu (odpowiednik genotypu Pro467Leu u ludzi), uzyskano określone predyspozycje do wyższych wartości ciśnienia tętniczego, przy zachowanej insulinowrażliwości. U tych zwierząt stwierdzono, że zmutowany allel istotnie zaburza ekspresję angiotensynogenu w tkance tłuszczowej.

Wpływ na układ renina–angiotensyna sygnalizowano również w innych pracach, w których między innymi wykazano, że PPAR γ hamuje ekspresję genu receptora AT $_1$ w komórkach mięśni gładkich [11, 12]. Dodatkowo tiazolidinediony mogą wpływać bezpośrednio na transkrypcję naczynioaktywnych substancji, jak na przykład czynnik natriuretyczny typu C (CNP, *C-type natriuretic peptide*) [13].

Odłącznym problemem jest uwarunkowanie genetyczne nadciśnienia tętniczego, zależne od receptora PPAR γ u ludzi. Z pewnością wspomniane we wstępie mutacje Pro467Leu czy Val290Met genu PPAR γ są dobrym przykładem istotnej roli omawianego receptora w patomechanizmie nadciśnienia tętniczego [7]. Jednak ze względu na sporadyczne ich występowanie, nie wydają się mieć istotnego znaczenia dla większości pacjentów. Z tego względu własne badanie ukierunkowano na najczęściej spotykaną mutację genu receptora PPAR γ — polimorfizm Pro12Ala.

Ustalono, że obecność zmutowanego allelu Ala nie wykazuje bezpośredniego związku z nadciśnieniem tętniczym u badanych chorych (obserwacja przed włączeniem terapii tiazolidinedionami). Podobne wyniki uzyskali Swarbrick i wsp. [14], którzy nie stwierdzili zależności obecności allelu Ala z nad-

ciśnieniem tętniczym u osób otyłych. Jednak analizując piśmiennictwo, dotyczące polimorfizmu Pro12Ala receptora PPAR γ , zauważa się również odmienne dane. Douglas i wsp. [15] wykazali, że obecność zmutowanego allelu Ala u osób bez cukrzycy wiąże się z wyższym ciśnieniem skurczowym lub rozkurczowym. Jednak oceniając chorych na cukrzycę ze współistniejącą otyłością znamioną różnicę wartości ciśnienia tętniczego między wariantami polimorficznymi receptora notowano jedynie w przypadku rozkurczowego nadciśnienia. Przeciwnie Östgren i wsp. [16] w grupie mężczyzn z nadciśnieniem tętniczym, niezależnie od wieku czy wskaźnika BMI, wyższe wartości wykazano w grupie badanych z obecnym genotypem Pro12Pro. Powstaje pytanie, skąd wynikają takie rozbieżności? Wydaje się, że najprostszym wytłumaczeniem jest wieloczynnikowa etiologia nadciśnienia tętniczego. Im więcej czynników ryzyka, takich jak na przykład otyłość czy cukrzyca, tym mniejsze znaczenie wydają się spełniać uwarunkowania genetyczne. Dobrym przykładem jest badanie Rodriguez-Esparragon i wsp. [17]. Z jednej strony stwierdzono rzadsze występowanie allelu Ala u osób z nadciśnieniem tętniczym, jak i u chorych na cukrzycę, w porównaniu z osobami zdrowymi (0,10 *vs.* 0,18; $p = 0,017$), a z drugiej zauważono, że wpływ tego czynnika genetycznego na przebieg nadciśnienia tętniczego jest zaznaczony w warunkach normohomocysteinemii, natomiast zanika w stanach hiperhomocysteinemii.

W badaniach własnych, po zastosowanej terapii roziglitazonem stwierdzono przede wszystkim obniżenie skurczowej wartości nadciśnienia tętniczego u pacjentów posiadających zmutowany allel. Warto dodać, że wyjściowo pacjenci z genotypem Pro12Pro mieli porównywalne wartości ciśnienia tętniczego skurczowego do osób z genotypem Pro12Ala. Może to mieć istotne implikacje kliniczne, wskazując, iż właśnie te osoby odniosłyby największą korzyść z terapii roziglitazonem.

Zwraca także uwagę fakt znamiennej zmniejszenia wartości hemoglobiny glikowanej po leczeniu wyłącznie u pacjentów z genotypem Pro12Ala. Interpretacja danych wymaga jednak dużej ostrożności, bowiem stężenia HbA $_{1c}$ w tej grupie chorych przed leczeniem były niższe od stwierdzanych u pacjentów z Pro12Pro. Mimo powyższych wątpliwości uzyskane wyniki nie są odosobnione. Na przykład Kang i wsp. [18] u chorych z porównywalnymi, wyjściowymi stężeniami HbA $_{1c}$ uzyskali również znamienne obniżenie HbA $_{1c}$ u osób z genotypem Pro12Ala (roziglitazon stosowano przez 12 tygodni). Ponadto odsetek pacjentów z dobrą odpowiedzią na leczenie roziglitazonem (definiowaną jako spadek

stężenia HbA_{1c} > 15% lub zmniejszenie stężenia glikemii na czczo > 20%) częściej obejmował chorych z obecnym allelem Ala ($p = 0,002$). W sprzeczności z własną pracą i odmienne dane prezentują Blüher i wsp. [19], którzy nie wykazali wpływu polimorfizmu Pro12Ala na wyrównanie metaboliczne cukrzycy podczas 26-tygodniowej terapii pioglitazonem. Być może różnice wynikają z różnych grup badanych, czasu obserwacji, wyjściowych wartości HbA_{1c} lub nawet zastosowanego preparatu. Z pewnością potrzebne są dalsze badania farmakogenetyczne obejmujące większą grupę pacjentów z oceną zarówno wpływu leku na wartości ciśnienia tętniczego, jak i wyrównania metabolicznego.

Wnioski

1. Egzogenna stymulacja receptora PPAR γ u chorych z insulinoopornością w przebiegu cukrzycy typu 2 przebiega z istotnym zmniejszeniem skurczowych wartości ciśnienia tętniczego.
2. Odpowiedź hipotensyjna roziglitazonu pozostaje w istotnym związku z genotypem Pro12Ala.

Streszczenie

Wstęp Receptor aktywowany przez proliferatory peroksisomów γ (PPAR γ , *peroxisome proliferator-activated receptor- γ*) jest czynnikiem transkrypcyjnym o szerokim spektrum działania. Zaburzenia jego ekspresji, uwarunkowane wariantami polimorficznymi genu, są nierzadko odpowiedzialne za otyłość, insulinooporność, a także nadciśnienie tętnicze.

Celem pracy była ocena wpływu agonisty receptora PPAR γ (roziglitazon) na wartości ciśnienia tętniczego u chorych na cukrzycę typu 2 w zależności od polimorfizmu Pro12Ala receptora PPAR γ .

Materiał i metody U 45 pacjentów z niewyrównaną metabolicznie cukrzycą typu 2 i insulinoopornością, leczonych pochodnymi sulfonilomocznika i metforminą, dołączono roziglitazon w dawce 4 mg/d. U wszystkich chorych oznaczono polimorfizm Pro12Ala [SnaPshot; ABI PRISM310]. Przed i po 22-tygodniowej terapii roziglitazonem dokonano oceny wartości ciśnienia tętniczego (średnia z 3 pomiarów). Pozostałe badania wykonano za pomocą rutynowych metod laboratoryjnych.

Wyniki U 12 osób ustalono genotyp Pro12Ala, a u 33 chorych genotyp Pro12Pro. Po zastosowanej terapii stwierdzono istotne statystycznie obniżenie ciśnienia skurczowego (przed leczeniem: $145,35 \pm 20,25$ mm Hg

vs. po leczeniu: $139,40 \pm 15,39$ mm Hg; $p < 0,045$). Składowa rozkurczowa również uległa obniżeniu, jednak w stopniu nieistotnym statystycznie (przed leczeniem: $86,37 \pm 10,77$ vs. po leczeniu: $83,73 \pm 10,19$ [mm Hg]; $p = 0,170$). Uwzględniając genotyp badanych, obniżenie ciśnienia tętniczego obserwowano jedynie u pacjentów posiadających jeden zmutowany allel ($p < 0,023$). U pacjentów z genotypem Pro12Pro nie wykazano istotnego statystycznie zmniejszenia wartości ciśnienia tętniczego ($p = 0,307$).

Wnioski 1. Egzogenna stymulacja receptora PPAR γ przebiega z istotnym spadkiem skurczowych wartości ciśnienia tętniczego. 2. Efekt hipotensyjny roziglitazonu dotyczy przede wszystkim chorych z genotypem Pro12Ala.

słowa kluczowe: polimorfizm Pro12Ala, receptor aktywowany przez proliferatory peroksisomów γ , nadciśnienie tętnicze, cukrzyca typu 2, roziglitazon
Nadciśnienie Tętnicze 2007, tom 11, nr 3, strony 215–222.

Piśmiennictwo

1. Szlachowska M., Zonenberg A. Leczenie nadciśnienia tętniczego w cukrzycy. *Diabetologia Praktyczna*. 2004; 5: 345–354.
2. Majkowska L. Wpływ leczenia nadciśnienia tętniczego u chorych na cukrzycę typu 2 na rozwój powikłań o typie makroangiopatii — wyniki dużych badań interwencyjnych. *Nadciśnienie Tętnicze* 2002; 6: 205–215.
3. Gacka M., Adamiec R. Nadciśnienie tętnicze a funkcja receptora aktywowanego przez proliferatory peroksisomów γ . *Nadciśnienie Tętnicze* 2003; 7: 281–285.
4. Derosa G., Cicero A.F., Dangelo A. i wsp. Thiazolidinedione effects on blood pressure in diabetic patients with metabolic syndrome treated with glimepiride. *Hypertens. Res.* 2005; 28: 917–924.
5. Yosefy C., Magen E., Kiselevich A. i wsp. Rosiglitazone improves, while Glibenclamide worsens blood pressure control in treated hypertensive diabetic and dyslipidemic subjects via modulation of insulin resistance and sympathetic activity. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2004; 44: 215–222.
6. Dormandy J., Charbonnel B., Eckland D.J.A. i wsp. Secondary prevention of macrovascular events in patients with type 2 diabetes in the PROactive Study (PROspective pioglitAzone Clinical Trial In macroVascular Events): a randomised controlled trial. *Lancet* 2005; 366: 1279–1289.
7. Gacka M., Adamiec R. Mutacja genu receptora aktywowanego przez proliferatory peroksisomów γ (PPAR γ) — implikacje kliniczne. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 2004; 58: 483–489.
8. Bennett S.M.A., Agrawal A., Elasha H. i wsp. Rosiglitazone improves insulin sensitivity, glucose tolerance and ambulatory blood pressure in subjects with impaired glucose tolerance. *Diabet Med.* 2004; 21: 415–422.
9. Negro R., Dazzi, D., Hassan H., Pezzarossa A. Pioglitazone reduces blood pressure in non-dipping diabetic patients. *Minerva Endocrinol.* 2004; 29: 11–17.
10. Yau-Sheng T., Hyo-Jeong K., Nobuyuki T. i wsp. Hypertension and abnormal fat distribution but not insulin resistance in mice with P465L PPAR γ . *J. Clin. Invest.* 2004; 114: 163–165.

11. Takeda K., Ichiki T., Tokunov T. i wsp. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ activators downregulate Angiotensin II type 1 receptor in vascular smooth muscle cells. *Circulation* 2000; 102: 1834–1839.
12. Sugawara A., Takeuchi X., Uruno A. i wsp. Transcriptional suppression of type 1 Angiotensin II receptor gene expression by PPAR- γ in vascular smooth muscle cells. *Endocrinology* 2001; 142: 3125–3134.
13. Fukunaga Y., Itoh H., Doi K. i wsp. Thiazolidinediones, peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists, regulate endothelial cell growth and secretion of vasoactive peptides. *Atherosclerosis* 2001; 158: 113–119.
14. Swarbrick M., Chapman C., McQuillan B. i wsp. Pro12Ala polymorphism in the human peroxisome proliferator-activated receptor- γ 2 is associated with combined hyperlipidaemia in obesity. *Eur. J. Endocrinol.* 2001; 144: 277–282
15. Douglas J., Erdos M., Watanabe R. The peroxisome proliferator-activated receptor-2 Pro12Ala variant association with type 2 diabetes and trait differences. *Diabetes* 2001; 50: 886–890.
16. Östgren C.J., Lindblad U., Melander O., Melander A. Peroxisome proliferator activated receptor- γ Pro12Ala polymorphism and the association with blood pressure in type 2 diabetes: Skaraborg Hypertension and Diabetes Project. *J. Hypertens.* 2003; 21: 1657–1662.
17. Rodriguez-Esparragon F.J., Rodriguez-Perez J.C., Macias-Reyes A., Alamo-Santana F. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ 2-Pro12Ala and endothelial nitric oxide synthase-4a/b gene polymorphisms are associated with essential hypertension. *J. Hypertens.* 2003; 21: 1649–1655.
18. Kang E.S., Park S.Y., Kim H.J. i wsp. Effects of Pro12Ala polymorphism of peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 gene on rosiglitazone response in type 2 diabetes. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2005; 78: 202–208.
19. Blüher M., Lubben G., Paschke R. Analysis of the relationship between the Pro12Ala variant in the PPAR-gamma2 gene and the response rate to therapy with pioglitazone in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26: 825–831.