

Wpływ różnej podaży soli w diecie na częstość występowania insulinooporności u chorych na nadciśnienie tętnicze z polimorfizmem Gly972Arg genu substratu receptora insuliny-1 (IRS-1)

The effect of dietary salt load on insulin resistance in hypertensive patients with the Gly972Arg polymorphism of the insulin receptor substrate 1 (IRS-1) gene

Summary

Background This work was designed to assess the effect of various dietary salt loads on the frequency of insulin resistance in hypertensive patients with Gly972Arg polymorphism of the IRS-1 gene.

Material and methods The study group comprised 115 non-obese patients aged 27.48 ± 5.15 years with essential uncomplicated arterial hypertension. Gly972Arg polymorphism of the IRS-1 gene was disclosed according to Yamada. The patients were hospitalized and placed on 7-day cycles of normal-, low- and high-sodium diet. Blood was sampled on day 7 of the normal sodium diet for the measurement of insulin, plasma renin activity, and aldosterone. Blood was again sampled on day 7 of the low- and high-sodium diet for the same determinations. In addition, 24 h ABPM was carried out on day 6 of the low- and high-sodium diet cycle. Insulin resistance was assessed with HOMA.

Results The GA genotype was revealed in 16 patients (13.9%). This genotype polymorphism of the IRS-1 gene was associated with higher frequency of insulin resistance, particularly on a normal and high-sodium diet. On low-sodium diet insu-

lin resistance was less frequent in GA patients but still remained significantly more frequent than in GG patients. Higher concentrations of total cholesterol, LDL-cholesterol, and triglycerides and lower concentrations of HDL-cholesterol were demonstrated in GA patients. Significant increase in insulin concentrations and HOMA during the high-sodium cycle were observed in GA patients only. In the case of the remaining parameters, changes induced by varying sodium load were similar in GA and GG patients.

Conclusions 1. Hypertensive patients with the GA genotype Gly972Arg polymorphism of the IRS-1 gene are predisposed to insulin resistance and disorders of lipid metabolism. 2. High-sodium diet enhances insulin resistance in patients with the GA genotype suggesting early progression to cardiovascular pathology if the patient remains hypertensive and salt consumption is not reduced.

key words: arterial hypertension, salt, insulin resistance, Gly972Arg polymorphism of IRS-1 gene
Arterial Hypertension 2007, vol. 11, no 1, pages 12–20.

Adres do korespondencji: dr med. Joanna Dziwura
Klinika Endokrynologii, Nadciśnienia Tętniczego i Chorób Przemiany Materii PAM
ul. Arkońska 4, 71–455 Szczecin
tel.: (091) 431–62–41, faks: (091) 431–62–43
e-mail: dziwura@o2.pl

 Copyright © 2007 Via Medica, ISSN 1428–5851

Wstęp

Pierwotne nadciśnienie tętnicze jest chorobą o złożonej etiologii, a w jej powstawaniu biorą udział zarówno czynniki środowiskowe, jak i genetyczne.

Wśród tych pierwszych powszechnie uznana jest nadmierna podaż soli w diecie, choć mechanizmy te nie zostały do końca wyjaśnione.

Ocenę genetycznego podłoża nadciśnienia tętniczego komplikuje fakt, że jest ono częścią złożonego zespołu metabolicznego, obejmującego otyłość, cukrzycę typu 2 i dyslipidemię. U podłoża tych aterosklerozy z zaburzeń leży insulinooporność, której częstość w populacji chorych na nadciśnienie oceniana jest na około 50% [1]. Insulinooporność tkanek obwodowych dotyczy przede wszystkim mięśni szkieletowych i tkanki tłuszczowej, przy czym zaburzenie to jest zlokalizowane głównie na poziomie poreceptorowym. Wpływ insulinooporności i towarzyszącej jej hiperinsulinemii na nadciśnienie tętnicze odbywa się między innymi przez zaburzenia gospodarki sodowej. Istnieją przekonujące dane o wspólnych dziedzicznych predyspozycjach do nadciśnienia i insulinooporności [2, 3], które mogą być modyfikowane przez czynniki środowiskowe, przede wszystkim dietę i tryb życia. W ostatnim czasie wykazano, że występowanie polimorfizmu genu kodującego cytoplazmatyczny substrat receptora insulinowego-1 (IRS-1, *insulin receptor substrate 1*), gdzie dochodzi do zamiany glicyny w miejscu 972 na argininę, wiąże się z insulinoopornością, cukrzycą typu 2, otyłością i nadciśnieniem [4–11]. W piśmiennictwie nie opisano dotąd zależności zaburzeń metabolicznych i hormonalnych od zmiennej podaży soli w diecie u osób z polimorfizmem Gly972Arg genu IRS-1 w porównaniu z genotypem dzikim. Zagadnienie to wydaje się ważne w aspekcie zapobiegania powikłaniom sercowo-naczyniowym lub opóźniania ich w grupie chorych na nadciśnienie, obarczonych dodatkowo mutacją genu IRS-1.

Celem pracy była ocena wpływu różnej podaży soli w diecie na częstość występowania insulinooporności u chorych na nadciśnienie tętnicze z polimorfizmem Gly972Arg genu cytoplazmatycznego substratu receptora insulinowego-1 (IRS-1).

Materiał i metody

Materiał

Badania przeprowadzono u 115 chorych na niepowikłane samoistne nadciśnienie tętnicze I stopnia (łagodne) lub II stopnia (umiarkowane) według Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego (PTNT) [12], w wieku $27,48 \pm 5,15$ lat. Badaniami objęto wyłącznie chorych bez otyłości (wskaźnik masy ciała [BMI, *body mass index*] $24,72 \pm 1,93$ kg/m²), bez niewydolności nerek, krążenia i wątroby oraz bez za-

burzeń rytmu serca i obręzków. Chorzy nie przyjmowali wcześniej leków hipotensyjnych, a przez okres 3 tygodni poprzedzających badania, żadnych innych.

Rozpoznanie nadciśnienia tętniczego ustalono na podstawie 3 niezależnych wizyt pacjenta w warunkach ambulatoryjnych, podczas których dokonywano 3-krotnych pomiarów ciśnienia tętniczego manometrem rtęciowym, w odstępach co najmniej 2-minutowych. Badani pozostawali w pozycji siedzącej, po przynajmniej 15-minutowym spoczynku. Do dalszych obliczeń przyjęto wartość średnią ze wszystkich pomiarów, zgodnie z zaleceniami PTNT [12]. Średnie wartości ciśnienia tętniczego wynosiły: ciśnienie tętnicze skurczowe $150,09 \pm 7,1$ mm Hg, ciśnienie tętnicze rozkurczowe $97,43 \pm 3,2$ mm Hg, ciśnienie tętnicze średnie (MAP, *mean arterial pressure*) $114,99 \pm 3,78$ mm Hg. Wykluczenie nadciśnienia wtórnego ustalono w warunkach szpitalnych, stosując rutynowe badania kliniczne, biochemiczne i radiologiczne. Do badań kwalifikowano wyłącznie osoby obciążone rodzinnie nadciśnieniem tętniczym. Za obciążenie rodzinne uznano występowanie nadciśnienia tętniczego u co najmniej jednego z rodziców. Zaplanowane oznaczenia wykonano w warunkach szpitalnych, zgodnie z protokołem podanym niżej.

Metody

Badania przeprowadzono w warunkach szpitalnych u osób stosujących przez 7 dni kontrolowaną dietę, zawierającą kolejno: 100–120 mmol, 10–20 mmol, 220–240 mmol sodu na dobę. Zawartość potasu we wszystkich rodzajach diet była stała i wynosiła 40–50 mmol/dobę. Przygotowanie posiłków i ich spożywanie było nadzorowane przez dietetyczkę. Przestrzeganie diety kontrolowano dobowym wydalaniem sodu w moczu. W 6. dobie spożywania diety normosodowej (100–120 mmol sodu na dobę) zakładano dobową zbiórkę moczu, w której oznaczano wydalanie sodu i potasu. W następnym dniu badanie przeprowadzono u osób pozostających w pozycji leżącej po 8-godzinym spoczynku nocnym i będących na czczo. Pobierano krew w celu oznaczenia: sodu, potasu, kreatyniny, glukozy, cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji LDL i frakcji HDL, triglicerydów w surowicy oraz insuliny, aktywności reninowej osocza i stężenia aldosteronu w osoczu, określając je jako warunki podstawowe. Następnie badani spożywali kolejno dietę niskosodową (10–20 mmol sodu na dobę) i wysokosodową (220–240 mmol sodu na dobę). W 6. i 7. dobie spożywania diety niskosodowej oraz wysokosodowej zakładano dobowe zbiórki moczu, w których oznaczano wydalanie sodu i potasu. W 6. dobie rozpoczynano 24-godzinny pomiar ciśnienia tętniczego metodą ABPM

(*ambulatory blood pressure monitoring*) aparatem firmy Spacelabs 90207. Pomiar ciśnienia opierał się na metodzie oscylometrycznej. Rejestrację rozpoczynano o godzinie 9.00 i kończono o tej samej porze następnego dnia. Pomiary były dokonywane co 20 minut w ciągu dnia i co 30 minut w nocy, a następnie analizowane za pomocą programu komputerowego. Za okres dzienny przyjęto czas między godziną 6.00 a 22.00, za okres nocny — czas od godziny 22.00 do 6.00. Obliczano średnie dobowe ciśnienie (24hMAP), dzienne średnie (DMAP, *diurnal mean arterial pressure*), nocne średnie (NMAP, *nocturnal mean arterial pressure*). W 7. dobie każdej z diet od badanych, będących po 8-godzinny spoczynku i pozostających nadal w pozycji leżącej oraz będących na czczo, pobierano próbki krwi w celu wykonania oznaczeń: glukozy, insuliny, aldosteronu i aktywności reninowej osocza.

Próbki krwi żyłnej pobierano do probówek umieszczonych w lodzie, na suchy EDTA, aby oznaczyć: aktywność reninową osocza (PRA, *plasma renin activity*) i aldosteronu (ALDO). Do probówki z heparyną pobierano krew w celu oznaczenia sodu, potasu i kreatyniny. Ponadto od wszystkich badanych jednorazowo pobierano 5 ml krwi żyłnej do izolacji DNA.

Insulinooporność została obliczona za pomocą współczynnika HOMA (*homeostatic model assessment*): stężenie insuliny pomnożone przez stężenie glukozy (mmol/l), a następnie podzielone przez 22,5. Na podstawie piśmiennictwa [13–15] jako kryterium insulinooporności przyjęto graniczną wartość wskaźnika HOMA $\geq 2,5$.

Na podstawie uzyskanych wartości aldosteronu i aktywności reninowej osocza obliczono wskaźnik ALDO/PRA, dzieląc stężenie aldosteronu w osoczu (w ng/100 ml) przez aktywność reninową osocza (w ng/ml/h) [16].

Oznaczenia laboratoryjne

Elektrolity (sód i potas) w surowicy i w moczu oznaczano metodą fotometrii płomieniowej, stężenie kreatyniny w surowicy, wykorzystując autoanalyzer firmy Technicon. Glukozę oznaczono metodą enzymatyczną (zestaw Cormay z heksokinazą). Stężenie insuliny oznaczano metodą immunoradiometryczną (zestaw Insulina — IRMA firmy BioSource). Stężenia lipidów (cholesterol całkowity, cholesterol frakcji LDL i frakcji HDL, triglicerydy) badano, wykorzystując metodę enzymatyczną (zestaw Integra).

Próbki krwi pobieranej na firmowy odczynnik do oznaczeń PRA i ALDO natychmiast wirowano w 4°C przez 10 minut i oddzielano osocze, które

przechowywano w temperaturze -70°C do czasu wykonania oznaczeń (nie dłużej jednak niż 3 miesiące). Aktywność reninową osocza (PRA) i stężenie aldosteronu (ALDO) określano, wykorzystując zestaw RIA-Serono.

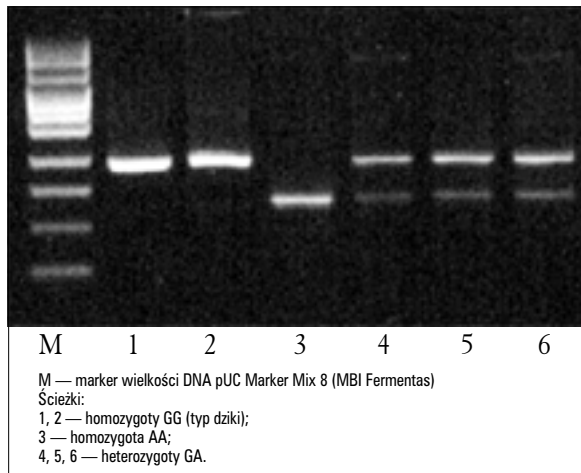
W celu izolacji DNA od każdego pacjenta pobierano jednorazowo 5 ml krwi żyłnej do probówek z 0,1 ml 5-procentowego EDTA. Genomowy DNA z leukocytów izolowano, używając zestawów QIA-amp Blood DNA Mini Kit (QIAGEN).

Polimorfizm Gly972Arg genu IRS-1

Do oceny polimorfizmu G2910A *IRS* w amplifikacji DNA podczas reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR, *polymerase chain reaction*) została zastosowana para oligonukleotydów: 5'-GCAGCCTGGCAG-GAGAG-3' — jako primer sensowny i 5'-CTCAC-CTCCTCTGCAGC-3' — jako primer antysensowny [17]. Produktem PCR z tymi primerami był fragment długości 221 par zasad zawierający polimorfizm G2910A. Próbki DNA (40 ng) były amplifikowane w roztworze o końcowej objętości 20 μl , zawierającym 4 pM każdego z pary starterów, 2,5 mM każdego z trójfosforanów deoksyrybonukleotydów (dATP, dTTP, dCTP, dGTP), bufor do PCR (stężenie MgCl_2 wynosiło 1,5 mM) i 0,5 jednostki polimerazy Taq (MBI Fermentas). Amplifikacje prowadzono w termocyklerze Mastercycler gradient (Eppendorf) w następujących warunkach: wstępna denaturacja w temperaturze 94°C przez 5 minut, a następnie 36 cykli: denaturacja w temperaturze 94°C przez 20 sekund, wiązanie starterów w temperaturze 60°C przez 40 sekund oraz elongacja w temperaturze 72°C przez 40 sekund. Reakcję łańcuchową polimerazy kończyła 8-minutowa elongacja łańcucha w temperaturze 72°C . Otrzymane amplikony były inkubowane przez 3 godziny w temperaturze 37°C z 2,5 jednostkami enzymu restrykcyjnego *Eco RII* (MBI Fermentas), a następnie rozdzielane elektroforetycznie w 3-procentowym żelu agarozowym, wybarwianym bromkiem etydyny. W celu dokumentacji wyników wykonywano zdjęcia żeli w nadfiolecie (ryc. 1).

Analiza statystyczna

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu pakietu Statistica (StatSoft, Inc. USA). Normalność rozkładu badano testem Shapiro-Wilka. Zależności dotyczące cech niezależnych mierzalnych o rozkładzie normalnym badano przy użyciu testów t , z oceną jednorodności wariancji lub bez niej (dla



Rycina 1. Identyfikacja polimorfizmu G2910A genu IRS-1
Figure 1. Detection of IRS-1 gene polymorphism Gly972Arg

grup powyżej 50 przypadków). Cechy o rozkładzie nienormalnym badano testami nieparametrycznymi, najczęściej testem Kołmogorowa-Smirnowa. Zmienne zależne o rozkładzie normalnym badano testem t dla prób zależnych. Natomiast zmienne zależne o rozkładzie nienormalnym — testem znaków lub testem Wilcozona. Analizę zmiennych niemierzalnych przeprowadzono testem Chi-kwadrat (χ^2), testem Pearsona oraz dokładnym testem Fishera dla małej liczebności grup i testem McNemara (testy nieparametryczne).

Wyniki

Dla wszystkich analizowanych próbek DNA uzyskano dobrej jakości rozdziały elektroforetyczne ampikonów poddanych analizie restrykcyjnej. Pozwoliło to na wiarygodne i jednoznaczne określenie indywidualnych genotypów. Identyfikację polimorfizmu Gly972Arg genu IRS-1 przedstawiono na rycinie 1.

W analizowanym fragmencie DNA istnieje naturalne miejsce restrykcyjne dla enzymu *Eco RII* i dlatego po inkubacji allelu typu dzikiego (G2910) z tą restryktazą powstają fragmenty restrykcyjne o długości 6 i 215 par zasad. W allelu zmutowanym A2910 dochodzi do utworzenia dodatkowego miejsca restrykcyjnego dla *Eco RII* i po trawieniu powstają fragmenty restrykcyjne o długości 6, 51 i 164 par zasad.

Wśród 115 chorych na nadciśnienie tętnicze obecność heterozygotycznej formy mutacji (GA) stwierdzono u 16 (13,9%), a genotypu dzikiego (GG) u 99 (86,1%) osób, nie odnotowano występowania genotypu AA.

Tabela I. Porównanie częstości występowania insulinooporności u chorych na nadciśnienie tętnicze z genotypem GA i GG na diecie normosodowej („100”), ubogosodowej („20”) i bogatosodowej („200”)

Table I. The frequency of insulin resistance in hypertensive patients with GA or GG genotype on normal- (“100”), low- (“20”), and high-salt (“200”) diets

	IR	IS	Poziom ufnosci (p)
Dieta „100”			
GA n = 16	12 (75%)	4 (25%)	p < 0,0001
GG n = 99	11 (11,1%)	88 (88,9%)	$\chi^2 = 31,26$
Ogółem	23	92	
Dieta „20”			
GA n = 16	6 (37,5%)	10 (62,5%)	p < 0,05
GG n = 93	11 (11,8%)	82 (88,2%)	$\chi^2 = 5,02$
Ogółem	17	92	
Dieta „200”			
GA n = 16	13 (81,3%)	3 (18,7%)	p < 0,0001
GG n = 99	12 (12,1%)	87 (87,9%)	$\chi^2 = 33,48$
Ogółem	25	90	

W tabeli I przedstawiono częstość występowania cechy insulinooporności u chorych na nadciśnienie tętnicze z genotypem GA i GG, kolejno na diecie: normo-, ubogo- oraz bogatosodowej.

Na diecie normosodowej insulinooporność stwierdzono u 75% (12 osób) grupy z genotypem GA i tylko u 11,1% (11 osób) z genotypem GG, podobnie na diecie bogatosodowej: u 81,3% (13 osób) GA i u 12,1% (12 osób) GG. Na każdej z diet insulinooporność występowała istotnie częściej u nosicieli allelu A. Po zastosowaniu diety ubogosolnej częstość cechy insulinooporności zmniejszyła się istotnie (p < 0,05) w grupie GA do 37,5% (6 osób). Natomiast dieta bogatosodowa powodowała istotne (p < 0,0001) zwiększenie cechy insulinooporności do 81,3% (13 osób) tylko w tej grupie chorych. Nie obserwowano istotnych zmian częstości insulinooporności w grupie GG pod wpływem zmian podaży soli w diecie.

W tabeli II porównano oznaczane parametry kliniczne i biochemiczne u chorych na nadciśnienie tętnicze z genotypem GA i GG na diecie normosodowej. W warunkach tych, określanymi jako podstawowe, badane grupy nie różniły się znamiennie wiekiem, wskaźnikiem BMI, wartościami ciśnienia tętniczego skurczowego, rozkurczowego i średniego, a także stężeniem kreatyniny, sodu i potasu w surowicy oraz w dobowej zbiórce moczu.

Tabela II. Charakterystyka kliniczna i biochemiczna chorych na naciśnienie tętnicze z genotypem GA i GG na diecie normosodowej**Table II.** Clinical and biochemical data in hypertensive patients with GA or GG genotype on normal sodium-diet

Cecha	GA n = 16	GG n = 99	Poziom ufnosci (p)
Wiek [lata]	25,62 ± 4,69	27,78 ± 5,17	NS
BMI [kg/m ²]	25,85 ± 1,14	24,54 ± 1,97	NS
SBP [mm Hg]	150,31 ± 6,70	150,05 ± 7,19	NS
DBP [mm Hg]	97,81 ± 4,07	97,37 ± 3,06	NS
MAP [mm Hg]	115,32 ± 4,04	114,93 ± 3,75	NS
GLU [mg/dl]	89,81 ± 4,73	88,91 ± 6,79	NS
INS [uIU/ml]	13,46 ± 5,88	7,13 ± 3,53	< 0,001
CHT [mg/dl]	218,25 ± 36,05	196,45 ± 26,93	< 0,01
HDL [mg/dl]	37,74 ± 10,85	49,99 ± 11,33	< 0,005
LDL [mg/dl]	150,68 ± 39,61	124,7 ± 30,16	< 0,005
TG [mg/dl]	149,12 ± 47,12	109,21 ± 34,83	< 0,001
C [mg/dl]	0,95 ± 0,13	0,86 ± 0,13	NS
sNa [mmol/l]	140,47 ± 1,78	140,74 ± 2,29	NS
sK [mmol/l]	4,34 ± 0,29	4,34 ± 0,36	NS
uNa [mmol/dobę]	121,38 ± 15,12	124,39 ± 10,87	NS
uK [mmol/dobę]	39,75 ± 15,62	42,05 ± 19,34	NS

BMI, body mass index, wskaźnik masy ciała; SBP, systolic blood pressure, ciśnienie tętnicze skurczowe; DBP, diastolic blood pressure, ciśnienie tętnicze rozkurczowe; MAP, mean arterial pressure, średnie ciśnienie dobowe; GLU, glukoza; INS, insulina; CHT, cholesterol całkowity; HDL, cholesterol frakcji HDL; LDL, cholesterol frakcji LDL; TG, triglicerydy; C, creatinine, kreatynina; sNa, stężenie sodu we krwi; sK, stężenie potasu we krwi; uNa, stężenie sodu w moczu; uK, stężenie potasu w moczu

Stwierdzono istotnie ($p < 0,01$) wyższe stężenie cholesterolu całkowitego, surowicy frakcji LDL i triglicerydów oraz niższe stężenie cholesterolu frakcji HDL u osób z genotypem GA w porównaniu z GG.

Jak przedstawiono w tabeli III, u chorych z genotypem GA w czasie stosowania diety bogatosodowej zarejestrowano istotny ($p < 0,05$) wzrost 24hMAP i NMAP, a wzrost DMAP był nieznamienny. Ponadto w tej grupie chorych dieta wysokosodowa wywołała istotne ($p < 0,05$) zwiększenie stężenia insuliny i wartości wskaźnika HOMA oraz istotne ($p < 0,001$) zmniejszenie PRA i ALDO; glukoza oraz wskaźnik ALDO/PRA pozostawały bez zmian. Natomiast u chorych z genotypem GG, stosujących kolejno dietę ubogo- i bogatosodową, stwierdzono istotny ($p < 0,0001$) wzrost: 24hMAP i DMAP oraz zmniejszenie NMAP. Wartości glukozy, insuliny i wskaźnika HOMA na diecie „20” i „200” pozostawały bez zmian. Pod wpływem diety bogatosodowej zaobserwowano istotne ($p < 0,0001$) obniżenie PRA, ALDO i wzrost wartości wskaźnika ALDO/PRA.

Porównanie różnicy (Δ) zmian badanych parametrów pod wpływem różnej podaży soli w diecie w grupach GA i GG przedstawiono w tabeli IV. W czasie stosowania diety bogatosodowej istotny wzrost stężenia insuliny i wskaźnika HOMA stwierdzono tylko w grupie GA. Natomiast pozostałe badane parametry pod wpływem zmiany podaży soli w diecie zmieniały się podobnie w grupie GA i GG.

Tabela III. Porównanie wartości średnich (\pm SD) 24hMAP, DMAP, NMAP oraz stężenia glukozy, insuliny, wskaźnika HOMA, PRA, ALDO, wskaźnika ALDO/PRA u chorych na naciśnienie tętnicze z genotypem GA i GG na diecie nisko- („20”) i wysokosodowej („200”)**Table III.** Mean (\pm SD) values for 24hMAP, DMAP, NMAP, glucose, insulin, HOMA, PRA, ALDO, ALDO/PRA in hypertensive patients with GA or GG genotype on low- („20”) and high-sodium diets („200”)

Cecha	GA		poziom ufnosci (p)	GG		poziom ufnosci (p)
	dieta „20”	dieta „200”		dieta „20”	dieta „200”	
24hMAP [mm Hg]	103,33 ± 14,98	107,19 ± 18,59	< 0,05	100,12 ± 0,33	116,97 ± 18,03	< 0,0001
DMAP [mm Hg]	106,33 ± 16,03	110,63 ± 19,80	NS	103,59 ± 13,49	106,47 ± 17,79	< 0,0001
NMAP [mm Hg]	94,67 ± 12,23	100,75 ± 18,88	< 0,05	107,94 ± 14,48	100,63 ± 0,49	< 0,0001
GLU [mg/dl]	81,86 ± 7,66	89,13 ± 6,84	NS	87,34 ± 8,52	88,19 ± 7,51	NS
INS [uIU/ml]	10,81 ± 4,8	14,27 ± 5,36	< 0,05	7,01 ± 3,67	9,17 ± 4,56	NS
HOMA	2,23 ± 0,99	3,11 ± 1,14	< 0,05	1,53 ± 0,87	1,61 ± 0,69	NS
PRA [ng/Al/ml/h]	4,78 ± 1,07	1,73 ± 0,83	< 0,001	4,5 ± 0,92	1,38 ± 0,67	< 0,0001
ALDO [pg/ml]	342,63 ± 76,87	119,48 ± 20,49	< 0,001	376,3 ± 62,1	112,38 ± 21,63	< 0,0001
ALDO/ARO	7,58 ± 2,37	8,29 ± 3,36	NS	8,67 ± 2,16	9,45 ± 3,32	< 0,05

24hMAP, 24 h mean arterial blood pressure, średnie ciśnienie dobowe; DMAP, diurnal mean arterial blood pressure, średnie ciśnienie dzienne; NMAP, nocturnal mean arterial blood pressure, średnie ciśnienie nocne; GLU, glukoza; INS, insulina; HOMA, homeostatic model assessment, współczynnik insulinooporności; PRA, plasma renin activity, aktywność reninowa osocza; ALDO, osoczkowe stężenie aldosteronu; ALDO/PRA, współczynnik aldosteronowo-reninowy

Tabela IV. Porównanie różnicy (Δ) zmian wartości średnich (\pm SD) ciśnienia tętniczego, glukozy, insuliny, wskaźnika HOMA, PRA i ALDO pod wpływem diety bogatosodowej i niskosodowej w grupie GA i GG

Table IV. Changes (Δ) in mean \pm SD values for arterial blood pressure, glucose, insulin, HOMA, PRA, and ALDO during high- and low-salt diets in patients with GA or GG genotypes

Cecha	GA n = 16 średnia \pm SD	GG n = 99 średnia \pm SD	p
Δ 24hMAP200-20	4,20 \pm 8,81	6,89 \pm 8,92	ns
Δ DMAP200-20	4,53 \pm 9,11	6,15 \pm 8,54	ns
Δ NMAP200-20	6,93 \pm 11,19	7,56 \pm 10,04	ns
Δ GLU 200-20	2,19 \pm 7,63	0,20 \pm 8,46	ns
Δ INS 200-20	3,46 \pm 5,83	0,46 \pm 3,77	p < 0,05
Δ HOMA200-20	0,89 \pm 1,26	0,06 \pm 0,89	p < 0,025
Δ PRA200-20	-3,0 \pm 1,3	-3,1 \pm 0,9	ns
Δ ALDO200-20	-223,1 \pm 79,2	-260,0 \pm 63,7	ns
Δ ALDO/PRA	0,71 \pm 2,77	0,65 \pm 4,94	ns

24hMAP, 24 h mean arterial blood pressure, średnie ciśnienie dobowe; DMAP, diurnal mean arterial blood pressure, średnie ciśnienie dzienne; NMAP, nocturnal mean arterial blood pressure, średnie ciśnienie nocne; GLU, glukoza; INS, insulina; HOMA, homeostatic model assessment, współczynnik insulinooporności; PRA, aktywność reninowa osocza; ALDO, osoczkowe stężenie aldosteronu; ALDO/PRA, plasma renina activity, współczynnik aldosteronowo-reninowy

Dyskusja

Do badań własnych kwalifikowano chorych na nadciśnienie tętnicze łagodne, bez otyłości i cukrzycy. W tak wyselekcjonowanej grupie polimorfizm Gly972Arg genu IRS-1 stwierdzono u 16 chorych na nadciśnienie tętnicze (13,9%). Rozkład częstości polimorfizmu mieścił się w zakresie opisywanym w piśmiennictwie u rasy kaukaskiej [6, 7, 11, 18, 19].

W prezentowanej pracy do oceny insulinooporności posłużono się wskaźnikiem HOMA, a za jego wartość graniczną przyjęto 2,5 [13–15]. Na tej podstawie określono rozkład insulinooporności w grupie chorych na nadciśnienie tętnicze z genotypem GA i GG w warunkach podstawowych oraz na diecie ubogo- i bogatosodowej. Na każdej z tych diet wskaźnik HOMA był istotnie wyższy, a insulinooporność występowała istotnie częściej u nosicieli allelu A. W warunkach podstawowych, jakimi określono dietę normosodową, obejmowała ona aż 75% chorych z GA i tylko 11% z GG. Stosując dietę ubogosodową, uzyskano znaczącą poprawę wrażliwości na insulinę tylko w grupie GA. Na diecie bogatosodowej stwierdzono istotny wzrost insulinooporności ponownie tylko u chorych z GA.

Dodatkowo w badaniu własnym grupa GA miała istotnie wyższe stężenie triglicerydów, cholesterolu całkowitego i cholesterolu frakcji LDL oraz istotnie

nizsze stężenie cholesterolu frakcji HDL w porównaniu z grupą GG. Na podstawie uzyskanych wyników można przypuszczać, że osoby z genotypem GA, mając predyspozycje do dyslipidemii i insulinooporności, są bardziej zagrożone powikłaniami sercowo-naczyniowymi niż osoby z genotypem dzikim, zwłaszcza w warunkach przewlekle stosowanej diety bogatosolnej.

W podobnej grupie nieleczonych chorych z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym i polimorfizmem Gly972Arg insulinooporność oceniał tylko Perticone, posługując się również wskaźnikiem HOMA. Uzyskał porównywalne wyniki, stwierdzając u nosicieli allelu A istotnie wyższe wartości tego wskaźnika, ale nie odniósł ich do zmiennej podaży sodu w diecie [10].

Ponieważ w badaniach własnych dieta bogatosodowa istotnie zwiększa, a dieta niskosodowa istotnie zmniejsza wartość wskaźnika HOMA, można przypuszczać, że do oceny insulinooporności tą metodą konieczna jest standaryzacja zawartości soli w diecie. Tym bardziej, że wpływ soli na insulinooporność obserwowano już wcześniej [20–24]. Według niektórych autorów pod wpływem nadmiernej podaży sodu stężenie insuliny we krwi wzrastało [20, 25], według innych nie ulegało żadnym zmianom [24] lub nawet obniżało się [26–28]. Należy jednak zaznaczyć, że sód zwiększa jelitowe wchłanianie glukozy [29, 30], na co odpowiedzią może być obserwowana hiperinsulinemia. Po uwzględnieniu tej poprawki i po dożylnym obciążeniu ładunkiem sodu obserwowano wręcz poprawę wrażliwości tkanek na insulinę w grupie chorych na nadciśnienie [23]. Tak różne rezultaty przytoczonych badań mogą więc wynikać z trudności opracowania miarodajnej metody oceniającej bezpośredni wpływ sodu na insulinooporność, a zwłaszcza jego nadmiernej podaży w diecie. Ogihara i wsp. [31] wykazali u szczurów karmionych dietą bogatosodową istotne nasilenie insulinooporności, mierzonej metodą kłamy hiperinsulinemicznej normoglikemicznej. Jednak próba wyjaśnienia tego zagadnienia na poziomie molekularnym przyniosła zaskakujące rezultaty. Okazało się bowiem, że pod wpływem sodu zwiększa się fosforylacja substratów receptora insuliny: IRS-1, IRS-2 i IRS-3, a także aktywność PI3-kinazy i Akt, mimo równocześnie narastającej insulinooporności. Autorzy zasugerowali więc, że sól zaburza wprawdzie mechanizmy sygnalizacyjne insuliny, ale na ich dalszym etapie, poniżej poziomu PI3-kinazy i Akt [31]. Ostatnio jednak, także w badaniu na szczurach, podważono tę hipotezę, udowadniając, że to właśnie dieta ubogosodowa, przez upośledzenie przekaźnictwa insuliny, sprzyja insulinooporności [32, 33]. Najpierw Okamoto wykazał, że u szczurów nadmierna

podaż sodu poprawia wrażliwość tkanek na insulinę poprzez wzrost ekspresji genu GLUT4, fosforylacji IRS-1 w mięśniach szkieletowych i IRS-2 w wątrobie oraz translokacji GLUT4 — zarówno w warunkach podstawowych, jak i w odpowiedzi na insulinę. Zjawiska te wykazują zupełnie odwrotne tendencje u zwierząt, po ograniczeniu soli w diecie [32]. Później potwierdził te spostrzeżenia także Prada, twierdząc, że dieta ubogosodowa obniża aktywność PI3-kinazy i Akt w mięśniach szkieletowych i wątrobie, prowadząc do insulinooporności, a przez wzrost ich aktywności w tkance tłuszczowej, dodatkowo sprzyja otyłości [33]. Jak to odnieść do osób z polimorfizmem genu IRS-1, u których przekazywanie insuliny jest i tak upośledzone? Na podstawie niejednoznacznych doniesień oraz wyników własnych można tylko spekulować, że działając na pierwotnie zmieniony substrat receptora insuliny, sól nie może rozwinąć swoich potencjalnie „korzystnych właściwości”. Ponieważ jednak w badaniu własnym u chorych bez tej mutacji zmiana zawartości soli w diecie nie wpłynęła znacząco na wartość wskaźnika HOMA, można byłoby spekulować, że u GA sól dodatkowo zaburza sygnalizację insuliny, ale na jej innym etapie. Wyjaśnienie tego problemu wymaga dalszych badań.

Złożone mechanizmy, odpowiedzialne za reakcję ciśnienia tętniczego na sól, wciąż pozostają tylko częściowo wyjaśnione. Wśród nich bierze się pod uwagę: wrodzone upośledzenie nerkowych mechanizmów wydalania sodu, prowadzące do wzrostu wolemii [34, 35], zwiększoną aktywność układu adrenergicznego [36–39, 44, 40, 57], spadek stężenia przedsionkowego czynnika natriuretycznego (ANF, *atrial natriuretic factor*) w osoczu lub osłabienie jego działania na poziomie receptorowym [41], nieprawidłowe uwalnianie reniny i modulowanie napięcia naczyń nerkowych [42, 43], zmniejszenie aktywności nerkowego układu kalikreinowo-kininowego [44–46] czy defekt śródbłonna naczyniowego w zakresie wydzielania endoteliny i czynnika rozszerzającego naczynia (EDRF, *endothelium-derived relaxing factor*) [47, 48]. Ostatnio coraz częściej rozpatrywane są w tym względzie insulinooporność i hiperinsulinemia, których wpływ na naciśnienie tętnicze odbywa się między innymi przez zaburzenia w transporcie jonów sodu w nerkach [49].

W badaniu własnym do oceny wpływu soli na wartość ciśnienia tętniczego wykorzystano metodę ABPM. Po zastosowaniu diety bogatosodowej obserwowano istotny wzrost średniego 24hMAP i NMAP w grupie GA oraz średniego 24hMAP i NMAP w grupie GG. O prawidłowej reakcji układu renina–angiotensyna–aldosteron (R–A–A) badanych grup na różną podaż soli w diecie świadczy podobny znamieny wzrost ak-

tywności reninowej osocza i aldosteronu podczas stosowania diety niskosodowej oraz podobne zahamowanie PRA z obniżeniem aldosteronu w przypadku diety wysokosodowej w obu grupach. W piśmiennictwie nie znaleziono prac oceniających aktywność układu R–A–A u osób z polimorfizmem Gly972Arg.

Wnioski

1. Chorzy na naciśnienie tętnicze, mający polimorfizm Gly972Arg genu substratu insulinowego-1 (IRS-1), charakteryzują się istotnie większą insulinoopornością oraz zaburzeniami gospodarki lipidowej.

2. Dieta bogatosodowa indukuje większą insulinooporność u chorych z naciśnieniem o genotypie GA, co sugeruje możliwość wcześniejszych powikłań sercowo-naczyniowych przy długotrwałym naciśnieniu i przewlekłe stosowanej diecie bogatosodowej u tych chorych.

Streszczenie

Wstęp Celem pracy była ocena wpływu różnej podaży soli w diecie na częstość występowania insulinooporności u chorych na naciśnienie tętnicze z polimorfizmem Gly972Arg genu IRS-1.

Materiał i metody Grupę badaną stanowiło 115 pacjentów w wieku $27,48 \pm 5,15$ lat, chorych na samoistne, niepowikłane naciśnienie tętnicze, bez otyłości. U wszystkich badanych oceniono obecność polimorfizmu Gly972Arg genu IRS-1. Genotypy identyfikowano według protokołu Yamady. Badania przeprowadzono w warunkach szpitalnych, stosując przez 7 dni kontrolowaną dietę, kolejno normo-, ubogo- i bogatosodową. W 7. dobie spożywania diety normosodowej pobierano krew w celu oznaczenia insuliny, aktywności reninowej osocza i stężenia aldosteronu w osoczu, określając je jako warunki podstawowe. Następnie badani spożywali kolejno dietę niskosodową i wysokosodową. W 7. dobie tych diet ponownie pobierano krew w celu oznaczenia glukozy, insuliny, aldosteronu i aktywności reninowej osocza. Ponadto w 6. dniu diety ubogo- i bogatosodowej przeprowadzono 24-godzinny pomiar ciśnienia tętniczego metodą ABPM. Insulinooporność została oceniona za pomocą współczynnika HOMA.

Wyniki Wśród 115 chorych na naciśnienie tętnicze obecność heterozygotycznej formy mutacji (GA) stwierdzono u 16 osób (13,9%). Polimorfizm genu IRS-1 wiązał się z istotnie częstszym występowaniem cechy insulinooporności, zwłaszcza w warunkach

diety normosodowej i bogatosodowej. Po zastosowaniu diety ubogosodowej częstość cechy insulinooporności u chorych GA uległa zmniejszeniu, nadal była jednak istotnie większa w porównaniu z GG. Ponadto u osób z genotypem GA stwierdzono istotnie wyższe stężenie cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji LDL, triglicerydów oraz niższe stężenie cholesterolu frakcji HDL w porównaniu z GG. W czasie stosowania diety bogatosodowej istotny wzrost stężenia insuliny i wskaźnika HOMA stwierdzono tylko w grupie GA. Natomiast pozostałe badane parametry pod wpływem zmiany podaży soli w diecie zmieniały się podobnie w grupie GA i GG.

Wnioski 1. Chorzy na nadciśnienie tętnicze, mający polimorfizm Gly972Arg genu substratu insulinowego-1 (IRS-1), charakteryzują się istotnie większą insulinoopornością oraz zaburzeniami gospodarki lipidowej. 2. Dieta bogatosodowa indukuje większą insulinooporność u chorych z nadciśnieniem o genotypie GA, co sugeruje możliwość wcześniejszych powikłań sercowo-naczyniowych przy długotrwałym nadciśnieniu i przewlekłe stosowanej diecie bogatosodowej u tych chorych.

słowa kluczowe: nadciśnienie tętnicze, sól, insulinooporność, polimorfizm Gly972Arg genu IRS-1
Nadciśnienie Tętnicze 2007, tom 11, nr 1, strony 12–20.

Piśmiennictwo

1. Reaven G.M. Insulin resistance/compensatory hyperinsulinemia, essential hypertension, and cardiovascular disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003; 88 (6): 2399–2403.
2. Allemann Y., Horber F.F., Colombo M. i wsp. Insulin sensitivity and body fat distribution in normotensive offspring of hypertensive parents. *Lancet* 1993; 341: 327–331.
3. Facchini F., Chen Y.D., Clinkingbeard C. i wsp. Insulin resistance, hyperinsulinemia, and dyslipidemia in nonobese individuals with a family history of hypertension. *Am. J. Hypertens.* 1992; 5 (10): 694–699.
4. Baroni M.G., Arca M., Sentinelli F. i wsp. The G972R variant of the Insulin Receptor Substrate-1 (*IRS-1*) gene, body fat distribution and insulin-resistance. *Diabetologia* 2001; 44 (3): 367–372.
5. Baroni M.G., Leonetti F., Sentinelli F. i wsp. The G972R variant of the insulin receptor substrate-1 (*IRS-1*) gene is associated with insulin resistance in “uncomplicated” obese subjects evaluated by hyperinsulinemic-euglycemic clamp. *J. Endocrinol. Invest.* 2004; 27 (8): 754–759.
6. Clausen J.O., Hansen T., Bjorbaek C. i wsp. Insulin resistance: interactions between obesity and a common variation of insulin receptor substrate-1. *Lancet* 1995; 346: 397–402.
7. Hitman G.A., Hawrami K., McCarthy M.I. i wsp. Insulin receptor substrate-1 gene mutations in NIDDM; implications for the study of polygenic disease. *Diabetologia* 1995; 38 (4): 481–486.
8. Jellema A., Zeegers M.P., Feskens E.J. i wsp. Gly972Arg variant in the insulin receptor substrate-1 gene and association with Type 2 diabetes: a meta-analysis of 27 studies. *Diabetologia* 2003; 46 (7): 990–995.

9. Le Fur S., Le Stunff C., Bougneres P. Increased resistance in obese children who have both 972 *IRS-1* and 1057 *IRS-2* polymorphisms. *Diabetes* 2002; 51(supl. 3): 304–307.
10. Perticone F., Sciacqua A., Scozzafava A. i wsp. Impaired endothelial function in never-treated hypertensive subjects carrying the Arg⁹⁷² polymorphism in the insulin receptor substrate-1 gene. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; 89 (7): 3606–3609.
11. Sigal R.J., Doria A., Warram J.H., Krolewski A.S. Codon 972 polymorphism in the insulin receptor substrate-1 gene, and risk of noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1996; 81 (4): 1657–1659.
12. Zasady postępowania w nadciśnieniu tętniczym. Stanowisko Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego. *Nadciśnienie Tętnicze* 2003; (7 supl. A).
13. Taniguchi A., Nakai Y., Sakai M. i wsp. Relationship of regional adiposity to insulin resistance in nonobese Japanese type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*, 2001; 24 (5): 966–968.
14. Tatoń J., Czech A., Bernas A. Farmakoterapia stabilnej choroby niedokrwiennej serca (chns) u osób z cukrzycą lub innymi kategoriami patologicznej hiperglikemii. Konieczność dualistycznego (kardiadiabetologicznego) podejścia — rekomendacje dla podstawowej opieki zdrowotnej. *Terapia* 2004; 149: 14–17.
15. Yoshitomi Y., Ishii T., Kaneki M. i wsp. Relationship between insulin resistance and effect of atorvastatin in non-diabetic subjects. *J. Atheroscler. Thromb.* 2005; 12 (1): 9–13.
16. Kaplan N.M. *Nadciśnienie Tętnicze*, Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner 1999: 417–438.
17. Yamada K., Yuan X., Ishiyama S. i wsp. Codon 972 polymorphism of the insulin receptor substrate-1 gene in impaired glucose tolerance and late-onset NIDDM. *Diabetes Care* 1998; 21 (5): 753–756.
18. Almind K., Bjorbaek C., Vestergaard H. i wsp. Amino acid polymorphism of insulin receptor substrate-1 in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1993; 342: 828–832.
19. Van Dam R.M., Hoebee B., Seidell J.C. i wsp. The insulin receptor substrate-1 Gly972Arg polymorphism is not associated with Type 2 diabetes mellitus in two population-based studies. *Diabetes UK. Diabet. Med.* 2004; 21 (7): 752–758.
20. Fuenmayor N., Moreira E., Cubeddu L. Salt Sensitivity is associated with insulin resistance in essential hypertension. *Am. J. Hypertens.* 1998; 4: 397–402.
21. Galletti F., Strazzullo P., Ferrara I. i wsp. NaCl sensitivity of essential hypertensive patients is related to insulin resistance. *J. Hypertens.* 1997; 15: 1485–1491.
22. Giner V., Coca A., de la Sierra A. Increased insulin resistance in salt sensitive essential hypertension. *J. Hum. Hypertens.* 2001; 15 (7): 481–485.
23. Majkowska L. Insulinooporność i hiperinsulinemia a sodowrażliwość ciśnienia tętniczego. *Nadciśnienie Tętnicze* 1999; 3 (supl. I): 1–70.
24. Sharma A.M., Schorr U., Distler A. Insulin resistance in young salt-sensitive normotensive subjects. *Hypertension* 1993; 21 (3): 273–279.
25. Sharma A.M., Ruland K., Spies K.P., Distler A. Salt sensitivity in young normotensive subjects is associated with a hyperinsulinemic response to oral glucose. *J. Hypertens.* 1991; 9 (4): 329–335.
26. Egan B.M., Stepniakowski K., Nazzaro P. Insulin levels are similar in obese salt-sensitive and salt-resistant hypertensive subjects. *Hypertension* 1994; 23 (1 supl.): 11–7.
27. Grim C.E., Henry J.P., Myers H. High blood pressure in blacks: salt, slavery, survival, stress and racism. W: Laragh J.H., Brenner M.B. (red.). *Hypertension: pathophysiology,*

diagnosis and management. Wyd. II. New York, Raven Press 1995; 171–207.

28. Lind L., Lithell H., Gustafsson I.B. i wsp. Metabolic cardiovascular risk factors and sodium sensitivity in hypertensive subjects. *Am. J. Hypertens.* 1992; 5 (8): 502–505.

29. Ferrannini E., Barrett E., Bevilacqua S. i wsp. Sodium elevates the plasma glucose response to glucose ingestion in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1982; 54 (2): 455–458.

30. Thorburn A.W., Crapo P.A., Griver K. i wsp. Long-term effects of dietary fructose on carbohydrate metabolism in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 1990; 39 (1): 58–63.

31. Ogihara T., Asano T., Ando K. i wsp. Insulin resistance with enhanced insulin signaling in high-salt diet-fed rats. *Diabetes* 2001; 50 (3): 573–583.

32. Okamoto M.M., Sumida D.H., Carvalho C.R. i wsp. Changes in dietary sodium consumption modulate GLUT4 gene expression and early steps of insulin signaling. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2004; 286 (4): 779–785.

33. Prada P.O., Coelho M.S., Zecchin H.G. Low salt intake modulates insulin signaling, JNK activity and IRS-1ser307 phosphorylation in rat tissues. *J. Endocrinol.* 2005; 185 (3): 429–437.

34. De Wardener H.E. Kidney, salt intake, and $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ inhibitors in hypertension. 1990 Corcoran Lecture. *Hypertension*, 1991; 17 (6 Pt 2): 830–836.

35. De Wardener H.E. The primary role of the kidney and salt intake in the aetiology of essential hypertension: Part II. *Clin. Sci.* 1990; 79 (4): 289–297.

36. Chen Y.F., Meng Q., Wyss J.M. i wsp. High NaCl diet reduces hypothalamic norepinephrine turnover in hypertensive rats. *Hypertension* 1988; 11 (1): 55–62.

37. Cybulska I., Januszak-Sitkowska H., Pęczkowska M i wsp. Aktywność reninowa osocza, aldosteron i aktywność adrenergiczna u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym i zdrowych osób z obciążeniem genetycznym w tym kierunku. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 1996; 95, 111–124.

38. Egan B.M., Petrin J., Hoffmann R.G. NaCl induces differential changes of regional vascular reactivity in salt-sensitive versus salt-resistant men. *Am. J. Hypertens.* 1991; 4 (12 Pt 1): 924–931.

39. Gill J.R., Grossman E., Goldstein D.S. High urinary dopa and low urinary dopamine-to-dopa ratio in salt-sensitive hypertension. *Hypertension* 1991; 18 (5): 614–621.

40. Gill J.R., Gullner G., Lake C.R. i wsp. Plasma and urinary catecholamines in salt-sensitive idiopathic hypertension. *Hypertension* 1988; 11 (4): 312–319.

41. Ferrari P., Weidmann P., Ferrier C. i wsp. Dysregulation of atrial natriuretic factor in hypertension-prone man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1990; 74 (4): 944–951.

42. Hollenberg N.K., Moore T., Shoback D. i wsp. Abnormal renal sodium handling in essential hypertension. Relation to failure of renal and adrenal modulation of responses to angiotensin II. *Am. J. Med.* 1986; 81 (3): 412–418.

43. Williams G.H., Hollenberg N.K. Sodium-sensitive essential hypertension: emerging insights into an old entity. *J. Am. Coll. Nutr.* 1989; 8 (6): 490–494.

44. De Leeuw P.W., Birkenhager W.H. Efferent renal nerve activity in hypertensive man. *Clin. Exp. Hypertens. A* 1987; 9 (supl. 1) 281–292.

45. Ferri C., Bellini C., Carlomango A. i wsp. Urinary kallikrein and salt sensitivity in essential hypertensive males. *Kidney Int.* 1994; 46 (3): 780–788.

46. Madeddu P., Varoni M.V., Demontis M.P. i wsp. Urinary kallikrein: a marker of blood pressure sensitivity to salt. *Kidney Int.* 1996; 49 (5): 1422–1427.

47. Chen P.Y., Sanders P.W. L-arginine abrogates salt-sensitive hypertension in Dahl/Rapp rats. *J. Clin. Invest.* 1991; 88 (5): 1559–1567.

48. Lahera V., Salazar J., Salom M.G., Romero J.C. Deficient production of nitric oxide induces volume-dependent hypertension. *J. Hypertens.* 1992; 10 (7) (supl.): 173–177.

49. Januszewicz A. Nadciśnienie tętnicze. *Medycyna Praktyczna*, Kraków 2000: 203–206, 365–371, 397–401.