

Agnieszka Rojek<sup>1</sup>, Marzena Chrostowska<sup>1</sup>, Justyna Bigda<sup>2</sup>,  
Ryszard Pawłowski<sup>3</sup>, Maria Dudziak<sup>4</sup>, Barbara Krupa-Wojciechowska<sup>1</sup>,  
Krzysztof Narkiewicz<sup>1</sup>

PRACA ORYGINALNA

<sup>1</sup>Zakład Nadciśnienia Tętniczego, Katedra Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego<sup>2</sup>Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej, Endokrynologicznej i Transplantacyjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego<sup>3</sup>Katedra i Zakład Medycyny Sądowej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego<sup>4</sup>Zakład Diagnostyki Chorób Serca, II Katedra Kardiologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

# Wpływ polimorfizmów genów *ACE* i angiotensynogenu na rozwój otyłości brzusznej oraz strukturę i funkcję mięśnia lewej komory — wyniki 10-letniej prospektywnej obserwacji młodych zdrowych mężczyzn

The relationship between *ACE* and angiotensinogen gene polymorphisms and visceral obesity, and left ventricular structure and function — a 10-year follow-up of young healthy males

## Summary

**Background** Genetic and environmental factors play a major role in the pathogenesis of hypertension. The aim of this study was to investigate whether the insertion/deletion (I/D) polymorphism of angiotensin-converting enzyme (ACE) gene and angiotensinogen (AGT) gene increase the susceptibility to abdominal obesity and affect left ventricular function and structure in a 10-year follow-up of a young healthy male population

**Material and methods** The study was carried out in a group of 68 normotensive subjects, aged  $23 \pm 3.5$  years, mean  $\pm$  SD. The subjects underwent the following procedures: anthropometric measurements, basic biochemical tests, office blood pressure measurements, ambulatory blood pressure measurements (ABPM), echo-

cardiography. The I/D polymorphism within intron 16 of the *ACE* gene and *AGT* gene polymorphism (the allele M235T and T174M) were genotyped by polymerase chain reaction.

**Results** No relationship between waist circumference and *ACE*, *AGT* polymorphisms was observed. The structural changes of the heart differed significantly in T174M *AGT* TT genotype with increased septum/posterior wall ratio compared to TM and MM: ( $1.20 \pm 0.12$  v.  $1.1 \pm 0.11$  cm;  $p < 0.05$ ). The II genotype of *ACE* gene was associated with an elevated A wave peak velocity in transmitral flow ( $0.56 \pm 0.17$  v.  $0.48 \pm 0.08$  m/s;  $p < 0.05$ ). Blood pressure was not related to the *ACE* and *AGT* polymorphisms.

**Conclusions** In a healthy population, the *ACE* and *AGT* polymorphisms might contribute to the structural and functional changes of the heart, but not to development of abdominal obesity or hypertension.

**key words:** *ACE* polymorphism, *AGT* polymorphism, waist circumference, hypertension

*Arterial Hypertension* 2011, vol. 15, no 4, pages 242–250.

Adres do korespondencji: dr n. med. Agnieszka Rojek  
Zakład Nadciśnienia Tętniczego, Katedra Nadciśnienia Tętniczego  
i Diabetologii GUMed  
ul. Dębinki 7c, 80–211 Gdańsk  
tel.: (58) 349 25 27, faks: (58) 359 26 01  
e-mail: arojek@gumed.edu.pl



Copyright © 2009 Via Medica, ISSN 1428–5851

## Wstęp

Nadciśnienie tętnicze jest najważniejszą przyczyną udarów mózgu oraz jednym z głównych czynników zawałów serca i schyłkowej niewydolności nerek [1]. W patofizjologii nadciśnienia tętniczego istotną rolę odgrywają interakcje czynników genetycznych i środowiskowych. O ile te ostatnie dobrze zdefiniowano na przełomie lat, o tyle wciąż niedostatecznie poznano tło genetyczne predysponujące do rozwoju powikłań narządowych.

Układ renina–angiotensyna–aldosteron (RAA, *renin angiotensin aldosterone*) jest podstawowym mechanizmem warunkującym homeostazę organizmu, regulującym ciśnienie tętnicze i gospodarkę wodno-elektrolitową [2, 3]. Jednym z kluczowych elementów układu jest enzym odpowiadający za degradację bradykininy, konwertujący angiotensynę I do angiotensyny II (ACE, *angiotensin-converting enzyme*). Zwiększona aktywność ACE może być niezależnym czynnikiem ryzyka miażdżycopochodnych chorób układu sercowo-naczyniowego [4–9]. W związku z tym poszukuje się czynników mających wpływ na aktywność ACE u zdrowych osób [10, 11]. Badanie polimorfizmu genu ACE umożliwiło analizę podłoża genetycznego aktywności tego enzymu [6, 12]. Zidentyfikowano jego 3 formy genotypowe: insercyjną (II), insercyjno-delecyjną (ID), delecyjną (DD). Związek między ekspresją polimorfizmu genu ACE, poziomem aktywności enzymu ACE a stężeniem angiotensyny II jest złożony [6] i przypuszczalnie nie polega na zależności bezpośredniej, a sprzężonej z innymi czynnikami genetycznymi — podobnie jak wysokość ciśnienia tętniczego, która jest uwarunkowana wieloma czynnikami addytywnymi. Istnieją przesłanki świadczące, że wariant homozygotyczny DD genu ACE, współistniejący z wyższym o 25–50% poziomem aktywności enzymu we krwi i tkankach [6, 12, 13], może wpływać na rozwój nadciśnienia tętniczego u mężczyzn (badanie *Framingham*) [14], przebudowę i funkcję lewej komory w chorobie wieńcowej oraz stanowić czynnik ryzyka zawału serca [4–7, 15, 16].

Badania układu RAA dotyczą także polimorfizmu genu kodującego angiotensynogen (AGT, *angiotensinogen*) i jego związku z nadciśnieniem tętniczym i chorobą wieńcową [17–20]. Znanych jest kilka wariantów polimorficznych typu polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (SNP, *single nucleotide polymorphism*) genu AGT; T174M i M235T. Dowiedziono, że u homozygot T235 wyższe jest stężenie angiotensynogenu we krwi i tkankach o 10–20% w porównaniu z polimorfizmem M235 [6, 21].

Ocena podłoża genetycznego uwarunkowań powikłań narządowych wymaga precyzyjnego scharak-

teryzowania fenotypu probantów [22]. Zastosowanie nieinwazyjnych, powtarzalnych metod badawczych układu krążenia, takich jak automatyczne całodobowe monitorowanie ciśnienia tętniczego (ABPM, *ambulatory blood pressure monitoring*) i badanie echokardiograficzne, może się istotnie przyczynić do kompleksowego wyjaśnienia wpływu interakcji podłoża genetycznego na regulację układu krążenia. Stwierdzenie predyspozycji genetycznej do rozwoju otyłości brzusznej i nadciśnienia tętniczego umożliwi stworzenie zindywidualizowanej profilaktyki i skutecznej terapii wczesnych powikłań narządowych.

## Materiał i metody

Obserwacją prospektywną objęto 68 młodych zdrowych mężczyzn, studentów Wydziału Lekarskiego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego [23]. Badanie przeprowadzono w dwóch etapach, w odstępie  $10 \pm 1,5$  roku, według protokołu zatwierdzonego przez Niezależną Komisję Bioetyczną do Spraw Badań Naukowych przy Akademii Medycznej w Gdańsku.

Zakwalifikowano osoby, u których średnia wartość ciśnienia tętniczego w trakcie dwóch odrębnych wizyt ambulatoryjnych (łącznie 6 pomiarów) wynosiła poniżej 140/90 mm Hg, u których nie stwierdzono odchyżeń w badaniu przedmiotowym oraz w podstawowych badaniach laboratoryjnych. Nie włączano osób palących ponad 10 sztuk papierosów dziennie, ze znacznym stopniem otyłości ( $BMI \geq 35 \text{ kg/m}^2$ ), wyczynowo trenujących sport.

Na początku i po 10 latach obserwacji wykonano następujące badania:

- pomiary antropometryczne i podstawowe badania biochemiczne;
- pomiar ciśnienia tętniczego metodą tradycyjną;
- całodobowa automatyczna rejestracja ciśnienia tętniczego;
- badanie echokardiograficzne.

### Pomiary wskaźników antropometrycznych i podstawowe badania laboratoryjne

Każdorazowo oceniano: masę ciała, wzrost, obwód talii i bioder. Na tej podstawie wyznaczano wskaźnik masy ciała ( $BMI$ , *body mass index*), wskaźnik talia/biodra ( $WHR$ , *waist-to-hip ratio*), jako wskaźnik otyłości centralnej [24]. Pomiaru obwodu talii dokonywano w połowie odległości między dolnym brzegiem łuku żebrowego i górnym brzegiem grzebienia kości biodrowej [25]. Podstawowe badania laboratoryjne obejmowały stężenia: kreatyniny, elektrolitów, profilu lipidowego, glukozy na czczo we krwi.

### Pomiar ciśnienia tętniczego metodą tradycyjną

Pomiary ciśnienia tętniczego przeprowadzono za pomocą sfigmomanometru rtęciowego — Riester 0124, zgodnie z zalecanym protokołem *European Society of Hypertension/European Society of Cardiology* (ESH/ESC) [26]. Średnią wartość 3 pomiarów podczas jednej wizyty przyjmowano za ciśnienie tętnicze przygodne. Pomiarów dokonywano w ciągu dwóch kolejnych wizyt.

### Całodobowa holterowska rejestracja ciśnienia tętniczego

Do ABPM użyto aparatów Spacelabs 90207. Zapisu ciśnienia tętniczego i tętna dokonywano w 20-minutowych odstępach w ciągu dnia (6.00–24.00) i 30-minutowych w ciągu nocy (00.00–6.00). Za fazę czuwania przyjęto godziny od 8.00 do 22.00, natomiast za fazę spoczynku okres między 0.00 a 6.00.

Przy analizie danych za błędne pomiary uznano te, w których [27]:

- ciśnienie tętnicze skurczowe (SBP, *systolic blood pressure*) nie przekraczało 50 mm Hg lub przekraczało 240 mm Hg;

- ciśnienie tętnicze rozkurczowe (DBP, *diastolic blood pressure*) było niższe niż 40 mm Hg lub wyższe niż 140 mm Hg;

- ciśnienie tętna (różnica SBP i DBP) było mniejsze niż 10% wartości SBP;

- częstość tętna przekraczała 150/min lub była mniejsza niż 40/min.

Odchylenie standardowe wartości w poszczególnych strefach czasowych przyjęto za miarę zmienności ciśnienia tętniczego.

### Badanie echokardiograficzne

Badania echokardiograficzne wykonano aparatem Hewlett-Packard Sonos 1500 (badanie wyjściowe), następnie aparatem Aloka 5000 (badanie po 10 latach), głowicą o częstotliwości 2,5 MHz. Strukturę i funkcję mięśnia sercowego oceniano w prezentacji jednowymiarowej (*M-mode*), pod kontrolą obrazu dwuwymiarowego (2D), z zastosowaniem doplera pulsacyjnego i ciągłego. Jednocześnie rejestrowano kończynowe odprowadzenie EKG. Liczone parametry uśredniano z 3 kolejnych cykli serca. Analizę wybranych parametrów struktury i funkcji lewej komory przeprowadzono zgodnie z obowiązującymi standardami *American Society of Echocardiography* [28–31]. Względna grubość ścian lewej komory (RWT, *relative wall thickness*) obliczono z uwzględnieniem przegrody międzykomorowej i ściany tylnej. Przy wyznaczeniu masy lewej komory (LVM, *left ventricular mass*) zastosowano formułę *Devereux* [32]. Wskaźnik masy lewej komory ( $LVM/body\ surface$

$area$  [BSA]) uzyskano przez znormalizowanie LVM do BSA i wzrostu podniesionego do potęgi 2,7 ( $LVM/H^{2,7}$ ) [29, 33]. Dla każdego badanego oszacowano prognozowaną LVM, co pozwoliło stworzyć indywidualne wartości referencyjne [33, 34].

### Badanie polimorfizmów genów ACE i angiotensynogenu

Analizę molekularną wykonano w Pracowni Heterogenetycznej Zakładu Medycyny Sądowej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Materiałem do badania DNA było 10 ml krwi żyłnej, pobieranej do numerowanych probówek z kwasem etylo-diaminotetraoctowym (EDTA, *ethylenediaminetetraacetate*) jako antykoagulantem. Przy izolacji DNA posłużono się metodą nieenzymatyczną, z użyciem zestawu Easy DNA prep firmy A&A Biotechnology Gdańsk lub metodą nieenzymatyczną i nieorganiczną. Stężenie DNA oznaczano metodą fluorometryczną, za pomocą wysoko specyficznego fluorochromu Hoechst 33258, wiążącego DNA w miejscu występowania pary adenina–tymina. Fluorochrom wzbudzano przy 365 nm. Emisję mierzono przy 460 nm. Na podstawie wzorcowych stężeń DNA z grasicy cielęcej (Sigma, Stany Zjednoczone) stwarzano krzywą kalibracyjną. Pomiary wykonywano fluorymetrem TKO100 firmy Hoefer. Za pomocą elektroforezy na żelu agarozowym określano stopień spolimeryzowania DNA, względem standardu wielkości DNA.

### Polimorfizm genu ACE

Badanie polimorfizmu genu ACE wykonano metodą reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR, *polymerase chain reaction*) z zastosowaniem oligonukleotydów (starterów): 5' CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT 3' i 5' GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGAT 3' [35]. Amplifikację przeprowadzono za pomocą aparatu Biometra (Trio-Thermoblock, Niemcy) przy użyciu termostabilnej polimerazy DNA (Taq polimeraza).

Do amplifikacji wykorzystywano 15 ml mieszaniny reakcyjnej złożonej z: 10 pM oligonukleotydów, 25 ng matrycowego DNA, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 3,5 j. Taq polimerazy (Promega, Stany Zjednoczone), 125 μM dNTP (Promega), 1,5 ml buforu do PCR.

Produkty amplifikacji o długości 190 i/lub 490 par zasad poddawano elektroforezie na 1,5-procentowym żelu agarozowym barwionym bromkiem etydyny. Następnie uwidaczano je w świetle UV o długości fali 302 nm. W celu potwierdzenia prawidłowości wykonanych oznaczeń molekularnych polimorfizmu inercyjno-delecyjnego (I/D, *insertion/deletion*) ACE wykonano dodatkową reakcję PCR ze starterami komplementarnymi do fragmentu inercyjnego.

### Polimorfizm genu AGT

Wykonano analizę wariantów polimorficznych genu *AGT* występujących w regionie drugiego egzonu pozycji 521 (cytozyna–tymina) i 704 (tymina–cytozyna). Skutkiem wskazanych substytucji jest zmiana sensu kodonu, a zatem zmiana sekwencji aminokwasowej polegającej na zamianie aminokwasu treoniny metioniną w pozycji 174 (polimorfizm T174M) oraz metioniny treoniną w pozycji 235 łańcucha polipeptydowego (polimorfizm M235T). Do analizy polimorfizmów wykorzystano oligonukleotydy (startery): 5' GAT GCG CAC AAG GTC CTG TC 3' i 5'CCG CCC GCC CCG CCC GCC GCC CGC CCC GCC CGC CGC CCG CTG CTG TCC ACA CTG GCT CGC 3' [35].

Do amplifikacji zastosowano 30 ml mieszaniny reakcyjnej składającej się z: 10 pM oligonukleotydów, 25 ng matrycowego DNA, 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 3,5 j. Taq polimerazy, 125 μM dNTP, 3 ml buforu do PCR. Produkty amplifikacji o długości 338 par zasad były poddawane analizie restrykcyjnej, przy zastosowaniu enzymów NcoI (wariant 174M) i BstUI (wariant 235T). W razie wystąpienia danego wariantu polimorficznego produktem cięcia były fragmenty o długości 246 i 92 par zasad dla NcoI oraz 279 i 59 par zasad dla BstUI. Wielkość fragmentów DNA określano według wzorca wielkości DNA 100 par zasad (*Gibco* BRL).

Produkty amplifikacji poddawano elektroforezie na żelu agarozowo-hydroksyetylocelulozowym (0,8%: 1,2%) barwionym bromkiem etydy. Uwidaczniano je w świetle UV 302 nm.

### Analiza statystyczna

Obliczenia statystyczne wykonano za pomocą pakietu Statistica ver.8.0, StatSoft, Inc. Próby poddane porównaniu charakteryzowały się rozkładem normalnym bądź zbliżonym do normalnego. Porównanie średnich wartości wykonano, stosując test *t*-Studenta dla zmiennych niezależnych (jeden punkt ob-

serwacji) oraz test *t*-Studenta dla zmiennych zależnych (2 punkty obserwacji). Za znamienne przyjęto *p* poniżej 0,05.

### Wyniki

W badanej populacji rozkład polimorfizmu genu *ACE* charakteryzował się dwukrotnie częstszym występowaniem genotypu heterozygotycznego (ID, 53%) w porównaniu z genotypami: insercyjnym (II, 22,7%) i delecyjnym (DD, 24,2%). Z uwagi na podobną liczebność homozygot DD i II porównań wybranych parametrów, w dalszej części pracy, dokonano w obrębie tych dwóch podgrup. Genotyp TT T174M dla genu *AGT* występował trzykrotnie częściej niż TM: 68,2% i 24,2%, odpowiednio. Ze względu na małą liczbę osób z genotypem MM (7,6%) w rozkładzie polimorfizmu genu *AGT*, grupę tę analizowano wraz z genotypem heterozygotycznym TM. Uzyskane rozkłady genotypów w badanej populacji pozostały w zgodzie z równowagą Hardy-Weinberga.

Wyjściowo, parametry antropometryczne, echokardiograficzne oraz wartości ciśnienia tętniczego nie różniły się między poszczególnymi genotypami T174M oraz w obrębie polimorfizmu genu *ACE*.

Po 10 latach u 74% mężczyzn zaobserwowano tendencję do wzrostu obwodu talii, z czego zespół metaboliczny definiowany według zaleceń *International Diabetes Federation* (IDF) rozpoznano w 8% przypadków. Przyrost BMI dotyczył 83% mężczyzn. Obserwowane zmiany antropometryczne pozostały bez związku z polimorfizmami genów *ACE* i *AGT*.

W ocenie echokardiograficznej nie stwierdzono znamienych statystycznie różnic w morfologii mięśnia sercowego między poszczególnymi wariantami genu *ACE* (tab. I). Natomiast w obrębie polimorfizmu T174M *AGT*, stosunek końcowo-rozkurczowego wymiaru grubości przegrody międzykomorowej (IVSDd,

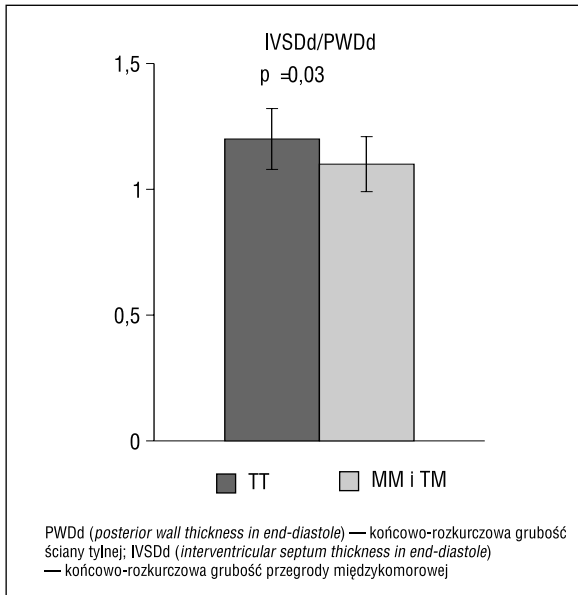
**Tabela I.** Morfologia lewej komory mięśnia sercowego w zależności od genotypu genu *ACE*

**Table I.** Left ventricular morphology in relationship to *ACE* gene polymorphism

	Polimorfizm ACE Genotyp DD	Polimorfizm ACE Genotyp II	p
LV			
PWDd [cm]	0,95 ± 0,09	0,97 ± 0,11	NS
IVSDd [cm]	1,04 ± 0,09	1,04 ± 0,08	NS
RWT	0,41 ± 0,03	0,42 ± 0,03	NS
LVM/H <sup>2,7</sup> [g/m <sup>2,7</sup> ]	37 ± 4,8	34,6 ± 5,8	NS

LV (left ventricle) — lewa komora; PWDd (posterior wall thickness in end-diastole) — końcowo-rozkurczowa grubość ściany tylnej; IVSDd (interventricular septum thickness in end-diastole) — końcowo-rozkurczowa grubość przegrody międzykomorowej; RWT (relative wall thickness) — wskaźnik względnej grubości ścian; LVM/H<sup>2,7</sup> (left ventricular mass index) — indeks masy lewej komory; NS — nieistotne statystycznie

*interventricular septum thickness in end-diastole*) do ściany tylnej (PVDd, *posterior wall thickness in end-diastole*) był wyższy u homozygot TT w porównaniu z genotypem TM i MM ( $1,20 \pm 0,12$  v.  $1,1 \pm 0,11$  cm;  $p = 0,03$ ) (ryc. 1). RWT był zbliżony w analizowanych podgrupach, podobnie jak LVM i objętość lewego przed-



**Rycina 1.** Stosunek grubości przegrody międzykomorowej do ściany tylnej w zależności polimorfizmu T174M genu angiotensynogenu

**Figure 1.** Septum/posterior wall ratio in relationship to T174M polymorphism of the angiotensinogen gene.

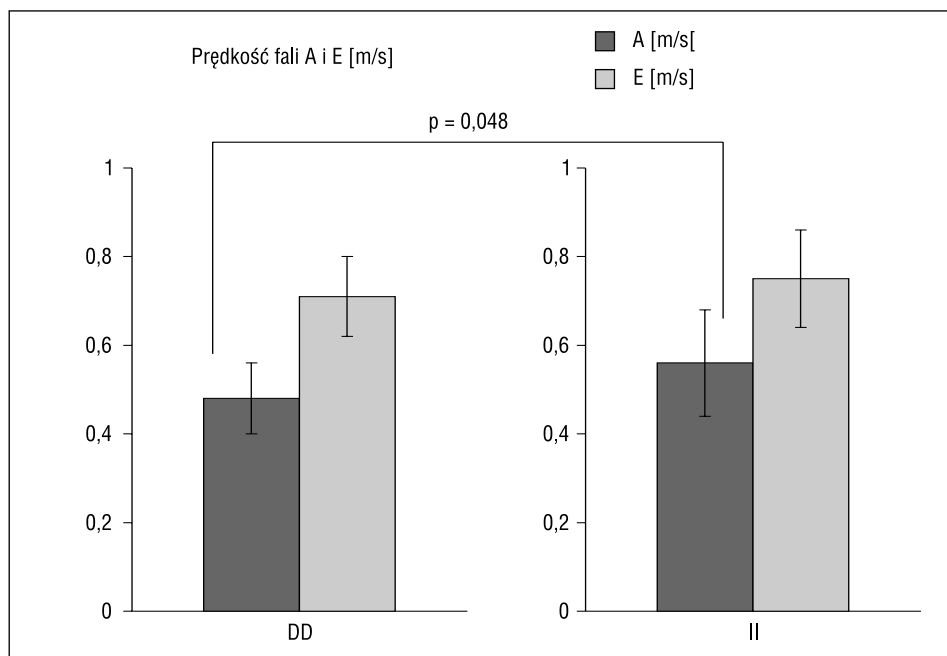
sionka. Parametry funkcji skurczowej lewej komory miokardium pozostawały bez wpływu polimorfizmów genów *ACE* i *AGT*. Natomiast analiza parametrów funkcji rozkurczowej lewej komory wykazała znaczącą statystycznie różnicę maksymalnej prędkości czynnej fazy napelniania lewej komory mięśnia sercowego (fala A) z istotną jej przewagą w genotypie II *ACE* w porównaniu z resztą populacji ( $0,56 \pm 0,17$  v.  $0,48 \pm 0,08$  m/s;  $p < 0,05$ ) (ryc. 2). Stosunek prędkości fali E/A wynosił  $1,39 \pm 0,25$  dla genotypu II w porównaniu z  $1,54 \pm 0,27$  dla genotypu DD ( $p = 0,14$ ).

Zarówno dla polimorfizmu T174M *AGT* jak i dla genu *ACE* nie znaleziono związku z wysokością ciśnienia tętniczego w pomiarach metodą tradycyjną i w rejestracji całodobowej (tab. II). Nie zaobserwowano także wpływu polimorfizmów na częstość akcji serca w okresie czuwania i spoczynku.

Nie wykazano związku parametrów antropometrycznych i hemodynamicznych z polimorfizmem M235T genu angiotensynogenu.

## Dyskusja

W celu dokładnego poznania interakcji zachodzących między czynnikami genetycznymi, środowiskowymi a regulacją ciśnienia tętniczego, dążyliśmy do stworzenia grupy homogennej. Dobór badanych był kompromisem między warunkami stawianymi badaniem populacyjnym a koncepcją stworzenia grupy



**Rycina 2.** Profil napływu mitralnego w zależności od polimorfizmu genu *ACE*: prędkości fali A i E

**Figure 2.** Transmitral flow pattern in relationship to *ACE* polymorphism: A and E wave peak velocity

**Tabela II.** Ciśnienie tętnicze w pomiarach metodą tradycyjną i ABPM w zależności od genotypu ACE i T174 AGT**Table II.** Office and ambulatory blood pressure in relationship to ACE and T174 AGT polymorphisms

	Polimorfizm ACE Genotyp DD	Polimorfizm ACE Genotyp II	p
SBP [mm Hg] przygodne czuwanie sen	130 ± 16	126 ± 12	NS
	132 ± 9	126 ± 11	NS
	117 ± 12	113 ± 11	NS
DBP [mm Hg] przygodne czuwanie	78 ± 8,1	74,5 ± 8,2	NS
	82,2 ± 7,6	78,9 ± 6,2	NS
	68,4 ± 9,3	66,2 ± 9,5	NS
	Polimorfizm T174 Genotyp TT	Polimorfizm T174	Genotyp MM + TM
SBP [mm Hg] przygodne czuwanie sen	128 ± 16	126 ± 10	NS
	127 ± 11	130 ± 9	NS
	112 ± 10	116 ± 13	NS
DBP [mm Hg] przygodne czuwanie sen	77,6 ± 10	76,5 ± 8,5	NS
	79 ± 6,6	80,9 ± 7	NS
	65,3 ± 6,4	67,2 ± 9	NS

SBP (systolic blood pressure) — skurczowe ciśnienie tętnicze; DBP (diastolic blood pressure) — rozkurczowe ciśnienie tętnicze

o dużej jednorodności. Obserwacją objęto mężczyzn o tym samym stopniu wykształcenia, ze zbliżonym rodzajem aktywności psychofizycznej w ciągu doby (wszyscy lekarze byli regularnie dyżurującymi pracownikami oddziałów szpitalnych). Wykształcenie medyczne badanych pozwoliło przypuszczać, że poziom stresu, związany bezpośrednio z samymi procedurami medycznymi przeprowadzanymi w trakcie wizyt kontrolnych, będzie niższy niż w innych populacjach. Jednorodność grupy pod względem płci, pozwalała na uzyskanie bardziej wiarygodnych wyników, co zarazem wyróżnia uzyskane rezultaty od poprzednich prac [36, 37].

W badanej populacji nie zaobserwowano wpływu polimorfizmu genu *AGT* na rozwój otyłości brzusznej i zmianę BMI, co zgodne jest z wcześniejszymi obserwacjami [38]. Nie potwierdzono zaobserwowanego w innych badaniach wpływu polimorfizmu I/D *ACE* na przyrost obwodu pasa i BMI [38], co może wynikać z odmiennego doboru grupy, pod względem wieku, czynników ryzyka oraz niewystarczającego dla badanej cechy czasu obserwacji. Między polimorfizmem genu *ACE* a rozwojem otyłości brzusznej może nie zachodzić bezpośredni związek przyczynowo-skutkowy. Być może, działając samodzielnie, wywołuje on relatywnie słaby efekt. Udokumentowany związek rozwoju otyłości brzusznej u chorych z chorobą wieńcową i wariantem homozygotycznym DD, sugeruje konieczność współistnienia dodatkowych czynników addytywnych (genetycznych i środowiskowych), predysponujących z biegiem czasu do rozwoju otyłości [39, 40].

Zmiany w mięśniu sercowym są dłużej związane zarówno z wysokością, jak zmiennością ciśnienia tętniczego; modulatorami tego procesu są mechanizmy neurohormonalne. Nasuwa się zatem pytanie, czy polimorfizm pojedynczego genu sam w sobie może być na tyle znaczący, by odpowiadać za zmianę morfologii i funkcji mięśnia sercowego. W obserwacji autorów pracy, w ocenie echokardiograficznej, zmienność alleliczna genu T174M *AGT* była związana ze znamienne większym wskaźnikiem IVSDd/PWDd u osób z genotypem TT, co często jest pierwszym sygnałem wczesnych zmian morfologicznych serca w nadciśnieniu tętniczym. Segment podstawny przegrody międzykomorowej jest uważany za najbardziej podatny na zmiany ciśnienia tętniczego, w efekcie jako pierwszy ulega przerostowi [41, 42]. Wykazany związek z genotypem TT genu *AGT* może mieć potencjalne znaczenie praktyczne, umożliwiając wyselekcjonowanie osób szczególnie zagrożonych wczesnymi powikłaniami narządowymi w przebiegu nadciśnienia tętniczego. Nie dowiedziono natomiast różnic strukturalnych mięśnia sercowego między genotypami II i DD genu *ACE*. Istnieje jednak co najmniej kilka przesłanek, wskazujących na udział polimorfizmu genu *ACE* w modulacji przerostu lewej komory serca [43–46]. Przemawiają za tym: większa aktywność *ACE* oraz szybsza konwersja angiotensyny I do II u pacjentów z przerostem lewej komory mięśnia sercowego [21, 43]. Możliwe, że wpływ genu *ACE* w zdrowej populacji jest na tyle mały, że trudno go

wykazać w grupie o liczebności mniejszej niż 100 osób [47, 48]. Przypuszcza się również, że zwiększona ekspresja genu wymaga dodatkowych bodźców stresogennych dla serca. W kontekście tym ważne są wyniki wcześniejszych badaniach sugerujących wpływ genotypu *ACE* na przebudowę lewej komory po zawale serca [4, 6, 7, 49–53]. Wykazano również zwiększoną ekspresję genu *ACE* wśród badanych, z podwyższonym ciśnieniem napełniania lewej komory serca. Zaobserwowana przez autorów istotnie wyższa prędkość czynnej fazy napełniania lewej komory u homozygot II pozostała bez znamiennej zmiany wpływu na stosunek maksymalnych prędkości fali E/A przepływu mitralnego. Możliwe więc, że polimorfizm genu *ACE* częściowo warunkuje relaksację mięśnia sercowego, jednak jego wpływ wydaje się znikomy, zwłaszcza, że pozostałe parametry opisujące funkcję rozkurczową lewej komory, nie różniły się między wybranymi polimorfizmami.

Podobnie jak we wcześniejszych badaniach obserwacja wykluczyła dominującą rolę polimorfizmów genów *ACE* i *AGT* w rozwoju nadciśnienia tętniczego u młodych osób. Ponieważ nadciśnienie tętnicze pierwotne jest złożoną, heterogenną chorobą poligenową, zachodzi prawdopodobieństwo, że nie mutacja w obrębie jednego genu, lecz interakcja kilku wariantów allelicznych jest odpowiedzialna za widoczny efekt fenotypowy, pod postacią podwyższonych wartości ciśnienia tętniczego [22, 54].

## Podsumowanie

Wkład pojedynczych polimorfizmów genów związanych z układem renina–angiotensyna w rozwój otyłości brzusznej i nadciśnienia tętniczego u osób zdrowych wydaje się znikomy. Zmiany morfologii i funkcji mięśnia sercowego, w populacji młodych mężczyzn, są w niewielkim stopniu modulowane przez polimorfizm genów *ACE* i *AGT*.

## Streszczenie

**Wstęp** W patogenezie nadciśnienia tętniczego istotną rolę odgrywa interakcja czynników genetycznych i środowiskowych. Celem niniejszego badania była ocena wpływu polimorfizmów genu enzymu konwertującego angiotensynę I (*ACE*) i angiotensynogenu (*AGT*) na rozwój otyłości brzusznej oraz strukturę i funkcję mięśnia lewej komory na podstawie 10-letniej prospektywnej obserwacji grupy młodych zdrowych mężczyzn.

**Materiał i metody** Obserwacją objęto 68 studentów medycyny w wieku  $23 \pm 3,5$  roku z prawidłowym ciśnieniem tętniczym. U wszystkich mężczyzn wykonano pomiar wskaźników antropometrycznych, podstawowe badania biochemiczne, pomiar ciśnienia tętniczego gabinetowy, całodobową automatyczną rejestrację ciśnienia tętniczego (ABPM) oraz badanie echokardiograficzne. Badanie polimorfizmu insercyjno-delecyjnego (I/D) w 16. intronie genu *ACE* oraz genu angiotensynogenu (polimorfizm T174M i M235T) przeprowadzono metodą łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR).

**Wyniki** W 10-letniej obserwacji zmiana obwodu talii nie miała związku z polimorfizmami genów *ACE* i *AGT*. W obrębie polimorfizmu T174M *AGT*, stosunek końcowo-rozkurczowego wymiaru grubości przegrody międzykomorowej do ściany tylnej był wyższy u homozygot TT w porównaniu z genotypem TM i MM ( $1,2 \pm 0,12$  v.  $1,1 \pm 0,11$  cm;  $p < 0,05$ ). Maksymalna prędkość czynnej fazy napełniania lewej komory serca (fala A) była istotnie wyższa w genotypie II *ACE* w porównaniu z resztą populacji ( $0,56 \pm 0,17$  v.  $0,48 \pm 0,08$  m/s;  $p < 0,05$ ). Nie znaleziono związku pomiędzy wysokością ciśnienia tętniczego a polimorfizmem T174M genu *AGT* i I/D genu *ACE*.

**Wnioski** Polimorfizmy I/D genu *ACE* i T174M genu *AGT* determinują zmiany morfologii i funkcji mięśnia sercowego w populacji młodych zdrowych mężczyzn, ale nie mają związku z rozwojem otyłości brzusznej i nadciśnienia tętniczego w tej grupie osób.

**słowa kluczowe:** otyłość brzuszna, obwód talii, nadciśnienie tętnicze, polimorfizm genu *ACE*, polimorfizm genu *AGT*

*Nadcisnienie Tętnicze 2011, tom 15, nr 4, strony 242–250.*

## Piśmiennictwo

1. Larson M.G., Atwood L.D., Benjamin E.J. i wsp. Framingham Heart Study 100K project: genome-wide associations for cardiovascular disease outcomes. *BMC Med. Genet.* 2007; 8 (supl. 1): S5.
2. Kokot F. Układy reninowo-angiotensynowe — aspekty patofizjologiczne, diagnostyczne i lecznicze. *Kardiologia Pol.* 1992; 36: 291–300.
3. Brzeziński A., Widecka K., Widecka J. i wsp. Polimorfizm insercyjno-delecyjny genu *ACE* a dobowa zmienność ciśnienia, albuminuria i sodowrażliwość u chorych na nadciśnienie tętnicze. *Nadcisnienie Tętnicze* 2006; 10: 362–369.
4. Gruchała M., Rynkiewicz A. Podstawy genetyki w kardiologii. *Via Medica*, Gdańsk 2003: 39–44.
5. Cambien F., Costerousse O., Tiret L. i wsp. Plasma level and gene polymorphism of angiotensin-converting enzyme in relation to myocardial infarction. *Circulation* 1994; 90: 669–676.
6. Danser A.H.J., Schunkert H. Renin-angiotensin system gene polymorphism: potential mechanisms for their association with cardiovascular diseases. *Eur. J. Pharmacol.* 2000; 410: 303–316.

7. Keavney B., McKenzie C., Parish S. i wsp. Large-scale test of hypothesized associations between the angiotensin-converting-enzyme insertion/deletion polymorphism and myocardial infarction in about 5000 cases and 6000 controls. *International Studies of Infarct Survival (ISIS) Collaborators. Lancet* 2000; 355: 434–442.
8. Cieciewicz D., Gruchała M., Keita L. i wsp. Relationship between polymorphism in the angiotensin converting enzyme gene and left ventricular volume and function in subjects below 50 years of age with an angiographically proven coronary heart disease. *Med. Sci. Monit.* 1998; 4: 453–457.
9. Fatini C., Abbate R., Pepe G. i wsp. Searching for a better assessment of the individual coronary risk profile. The role of angiotensin-converting enzyme, angiotensin II type I receptor and angiotensinogen gene polymorphisms. *Eur. Heart J.* 2000; 21 (8): 633–638.
10. Soubrier F., Hubert C., Testut P. i wsp. Molecular biology of the angiotensin I convertin enzyme: I. Biochemistry and structure of the gene. *J. Hypertens.* 1993; 11: 471–476.
11. Soubrier F., Wei L., Hubert C. i wsp. Molecular biology of the angiotensin I converting enzyme: II. Structure — function. Gene polymorphism and clinical implications. *J. Hypertens.* 1993; 11: 5999–5604.
12. Rigat B., Hubert C., Corvol P., Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J. Clin. Invest.* 1990; 86: 1343–1346.
13. Danser A.H.J., Schalekamp M.A.D.H., Bax W.A. i wsp. Angiotensin-converting enzyme In the human heart. Effect of the deletion/insertion polymorphism. *Circulation* 1995; 92: 1387–1388.
14. O'Donnell C.J., Lindpaintner K., Larson M.G. i wsp. Evidence for association and genetic linkage of the angiotensin-converting enzyme locus with hypertension and blood pressure in men but not women in the Framingham Heart Study. *Circulation* 1998; 97: 1766–1772.
15. Rynkiewicz A., Gruchała M. Short story of the insertion/deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene in cardiology. *Nadciśnienie Tętnicze* 2001; 5: 28–33.
16. Dzielińska Z., Małek L.A., Roszczyńko M. i wsp. Combined renin-angiotensin system gene polymorphisms and outcomes in coronary artery disease — a preliminary report. *Kardiol. Pol.* 2011; 69: 688–695.
17. Ishigami T., Umemura S., Iwamoto T. i wsp. Molecular variant of angiotensinogen gene is associated with coronary atherosclerosis. *Circulation* 1995; 91: 951–954.
18. Katsuya J., Koike G., Yee T.W. i wsp. Association of angiotensinogen gene T235 variant with increased risk of coronary heart disease. *Lancet* 1995; 345: 1600–1603.
19. Schmidt R., Schmidt H., Fazekas F. i wsp. Angiotensinogen polymorphism M235T, carotid atherosclerosis, and small-vessel disease-related cerebral abnormalities. *Hypertension* 2001; 38: 110–115.
20. Kraja A.T., Hunt S.C., Rao D.C., i wsp. Genetics of hypertension and cardiovascular disease and their interconnected pathways: lessons from large studies. *Curr. Hypertens. Rep.* 2011; 13: 46–54.
21. Schunkert H. Polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and cardiovascular disease. *J. Mol. Med.* 1997; 75: 867–875.
22. Polonis K., Hoffmann M., Narkiewicz K. Wpływ wybranych czynników genetycznych na wczesne powikłania nadciśnienia tętniczego. *Nadciśnienie Tętnicze* 2011; 15: 125–142.
23. Rojek A., Chrostowska M., Dudziak M., Narkiewicz K. Wpływ rodzinnego obciążenia nadciśnieniem tętniczym na rozwój otyłości brzusznej i zmiany w układzie sercowo-naczyniowym — Wyniki 10-letniej prospektywnej obserwacji młodych zdrowych mężczyzn. *Nadciśnienie Tętnicze* 2011; 15: 29–36.
24. National Institutes of Health. Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults: the evidence report. *Obes. Res.* 1998; 6: 51S–209S.
25. Zahorska-Markiewicz B. Otyłość — współczesna diagnostyka. W: Mamcarza A. (red.). *Zespół metaboliczny*. Medical Education Warszawa 2008.
26. Mancia G., De Backer G., Dominiczak A., i wsp. ESH-ESC Task Force on the Management of Arterial Hypertension. 2007 ESH-ESC Practice Guidelines for the Management of Arterial Hypertension. *J. Hypertens.* 2007; 25: 1751–1762.
27. Staessen J.A., Bulpitt C.J., O'Brien E. i wsp. The diurnal blood pressure profile. A population study. *Am. J. Hypertens.* 1992; 5: 386–392.
28. Gottdiener J.S., Bednarz J., Devereux R. i wsp. American Society of Echocardiography recommendations for use of echocardiography in clinical trials. A report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Task Force on Echocardiography in Clinical Trials. *J. Am. Soc. Echocardiogr.* 2004; 17: 1086–1119.
29. Lang R.M., Bierig M., Devereux R.B. i wsp. Recommendations for chamber quantification. A report from the American Society of Echocardiography's Nomenclature and Standards Committee, the American Heart Association, and the European Association of Echocardiography, a branch of European Society of Cardiology. *Eur. J. Echocardiography* 2006; 7: 79–108.
30. Sahn D.J., De Maria A., Kisslo J., Weyman A.; the committee on M-Mode standardization of the American Society of Echocardiography. Recommendations regarding quantitation in M Mode Echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. *Circ.* 1978; 58: 1072–1083.
31. Feigenbaum H., Armstrong W., Ryan T. *Echokardiografia Feigenbauma*. Medipage, Warszawa 2006.
32. Devereux R.B., Alonso D.R., Lutas E.M. i wsp. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am. J. Cardiol.* 1986; 57: 450–458.
33. De Simone G., Verdecchia P., Pede S., Gorini M., Maggioni A.P. Prognosis of inappropriate left ventricular mass in hypertension. The MAVI Study. *Hypertension* 2002; 40: 470–476.
34. Chinali M., De Simone G., Roman M.J. i wsp. Impact of obesity on cardiac geometry and function in a population of adolescents. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006; 47: 2267–2273.
35. Rutledge D.R., Browe C.S., Kubilis P.S., Ross E.A. Analysis of two variants of the angiotensinogen gene in essential hypertensive African-Americans. *Am. J. Hypertens.* 1994; 7: 651–654.
36. Tank J., Heusser K., Diedrich A. i wsp. Influences of gender on the interaction between sympathetic nerve traffic and central adiposity. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2008; 93: 4974–4978.
37. Silander K., Alanne M., Kristiansson K. i wsp. Gender differences in genetic risk profiles for cardiovascular disease. *PLoS One* 2008; 3: e3615.
38. Strazzullo P., Iacone R., Iacoviello L. i wsp. Genetic variation in the renin-angiotensin system and abdominal adiposity in the men: the Olivetti Prospective Heart Study. *Ann. Intern. Med.* 2003; 138: 17–23.
39. Riera-Fortuny C., Real J.T., Chaves F.J. i wsp. The relation between obesity, abdominal fat deposit and the angiotensin-



- converting enzyme gene I/D polymorphism and its association with coronary heart disease. *Int. J. Obes.* 2005; 29: 78–84.
40. Procopciuc L.M., Sitar-Tăut A., Pop D. i wsp. Renin-angiotensin system polymorphisms in patients with metabolic syndrome (MetS). *Eur. J. Intern. Med.* 2010; 21: 414–448.
41. Diaz T., Pencina M.J., Benjamin E.J. i wsp. Prevalence, clinical correlates, and prognosis of discrete upper septal thickening on echocardiography: the Framingham Heart Study. *Echocardiography* 2009; 26: 247–253.
42. Rojek A., Cholewińska D., Rosłonkiewicz K., Świerblewska E. Miejsce echokardiografii w diagnostyce i terapii nadciśnienia tętniczego. *Choroby Serca i Naczynia* 2007; 4: 70–77.
43. Schunkert H. Controversial association of left ventricular hypertrophy and the ACE I/D polymorphism — is the mist clearing up? *Nephrol. Dial. Transplant.* 1998; 13: 1109–1112.
44. Kenichi N., Satoru M., Hiroko M. i wsp. Insertion/deletion polymorphism in the angiotensin-converting-enzyme gene affects heart weight. *Circulation* 2000; 101: 148–151.
45. Busjahn A., Knoblauch H., Bohlender J. i wsp. Angiotensin converting enzyme and angiotensinogen gene polymorphism, plasma levels, cardiac dimensions. A twin study. *Hypertension* 1997; 29: 165–170.
46. Wong K.K., Summers K.M., Burstow D.J., West M.J. Genetic variants of proteins from the rennin-angiotensin system are associated with pressure load cardiac hypertrophy. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 1996; 23: 587–590.
47. Franceschini N., Reiner A.P., Heiss G. Recent findings in the genetics of blood pressure and hypertension traits. *Am. J. Hypertens.* 2011; 24: 392–400.
48. Rafiq S., Anand S., Roberts R. Genome-wide association studies of hypertension: have they been fruitful? *J. Cardiovasc. Transl. Res.* 2010; 3: 189–196.
49. Bohn M., Berge K.E., Bakken A., Erikssen J., Berg K. Insertion/deletion (I/D) polymorphism at the locus for angiotensin I-converting enzyme and parental history of myocardial infarction. *Clin. Genet.* 1993; 44: 292–301.
50. Cambien F., Poirier O., Lecerf L. i wsp. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992; 359: 641–644.
51. Ludwig E., Corneli P.S., Anderson J.L., Marshall H.W., Lalouel J.M., Ward R.H. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism is associated with myocardial infarction but not with the development of coronary stenosis. *Circulation* 1995; 91: 2120–2124.
52. Tiret L., Bonnardeaux A., Poirier O. i wsp. Synergistic effects of angiotensin-converting enzyme and angiotensin II type I receptor gene polymorphisms on risks of myocardial infarction. *Lancet* 1994; 344: 910–913.
53. Schunkert H., Hense H.W., Holmer S. i wsp. Association between a deletion polymorphism of the angiotensin-converting-enzyme gene and left ventricular hypertrophy. *N. Engl. J. Med.* 1994; 30: 1634–1638.
54. Bhavani B.A., Padma T., Sastry B.K.S., Krishna Reddy N., Nausheen K. The Insertion I/ Deletion D polymorphism of Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) Gene Increase the Susceptibility to Hypertension and/or Diabetes. *Int. J. Hum. Genet.* 2005; 5: 247–252.