

Magdalena Makowiecka-Cieśla<sup>1</sup>, Andrzej Januszewicz<sup>1</sup>,  
Grażyna Adler<sup>2</sup>, Agnieszka Bińczak-Kuleta<sup>2</sup>, Iwona Gorący<sup>2</sup>,  
Mariusz Kaczmarczyk<sup>2</sup>, Jadwiga Janas<sup>3</sup>, Aleksander Prejbisz<sup>1</sup>,  
Agata Kubaszek<sup>1</sup>, Andrzej Ciechanowicz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Klinika Nadciśnienia Tętniczego Instytutu Kardiologii w Warszawie

<sup>2</sup>Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej i Medycyny Molekularnej Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie

<sup>3</sup>Zakład Biochemii Klinicznej Instytutu Kardiologii w Warszawie

# Polimorfizm I/D genu *ACE* a działanie hipotensyjne losartanu u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze

The I/D *ACE* gene polymorphism and antihypertensive efficacy of losartan in patients with primary hypertension

## Summary

**Background** The insertion/deletion (I/D) *ACE* gene polymorphism seems the most widely studied sequence variant of human genome. Although evidence implicates the linkage of *ACE* locus and the risk for arterial hypertension, there are confounding data regarding association of *ACE* gene polymorphism with blood pressure (BP) response to antihypertensive therapy in patients with essential hypertension. Therefore the aim of our study was to evaluate the association between I/D *ACE* polymorphism and antihypertensive efficacy of an angiotensin II receptor blocker — losartan.

**Material and methods** Fifty patients (mean age  $47 \pm 8$  years) with essential hypertension (stage I–II, ESH/ESC, 2007) were included into the study. The patients were treated with losartan starting from dose of 50 mg once daily. The dose could be increased up to 100 mg once daily if there was no normalization of blood pressure after 4 weeks of treatment. The ambulatory BP measurements (ABPM), clinic BP measurements as well as evaluation of plasma renin activity and serum angiotensin II concentration measurements were performed before and

after 8 weeks of treatment. The *ACE* genotypes were identified by PCR method.

**Results** The frequency distribution of *ACE* genotypes were as follows: 20% II homozygotes, 50% ID heterozygotes and 30% DD homozygotes. There were no significant differences in clinic characteristics and baseline BP levels among II, ID or DD patients. After 8 weeks of treatment significant decrease of BP levels both in clinic measurements and ABPM was noted regardless of *ACE* genotype. Losartan dose was titrated in 7 patients with II genotype (70%), 12 patients with ID genotype (48%) and in 4 patients with DD genotype (27%). Patients with DD genotype were characterized by lower systolic and diastolic BP levels after 8 weeks of treatment as compared with carriers of the I allele (ID or II).

**Conclusions** Our results suggest the association between I/D *ACE* gene polymorphism and the hypotensive effect of losartan.  
**key words:** pharmacogenetics, arterial hypertension, losartan, *ACE* polymorphism

*Arterial Hypertension 2007, vol. 11, no 6, pages 498–504.*

Adres do korespondencji: prof. dr hab. med. Andrzej Ciechanowicz  
Pomorska Akademia Medyczna  
Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej i Medycyny Molekularnej  
ul. Powstańców Wlkp. 72, 70–111 Szczecin  
tel. (091) 466–14–90, faks: (091) 466–14–92  
e-mail: aciech@sci.pam.szczecin.pl

 Copyright © 2007 Via Medica, ISSN 1428–5851

## Wstęp

Odkryty w 1990 roku przez Rigat i wsp. polimorfizm insercyjno/delecyjny (I/D) genu *ACE* kodującego konwertazę angiotensyny I (*ACE*, *angiotensin-*

*converting enzyme*) (odpowiednio: obecność lub brak 287 par zasad w 16 intronie tego genu) to najchętniej analizowany i zapewne najlepiej przebadany wariant sekwencji w genomie. Niektórzy autorzy sugerują, że polimorfizm ten ma duże znaczenie funkcjonalne, gdyż w regionie delecji zlokalizowany jest 13-nukleotydowy motyw "wyciszacza" (*silencer*) ekspresji genu, czyli miejsce wiążące białko regulatorowe hamujące ekspresję genu. Brak tego motywu u osób z allelem D prowadzi do większej ekspresji genu ACE, a w rezultacie — do wyższej aktywności konwertazy, zarówno w surowicy, jak i w tkankach. Inni autorzy sądzą, że intronowy polimorfizm I/D pozostaje raczej w ścisłym sprzężeniu z innym, ważnym funkcjonalnie polimorfizmem genu ACE. Niezależnie od natury tego zjawiska, pewny jest fakt, że polimorfizm ten wyjaśnia niemal 27% zmienności aktywności enzymu konwertującego. W większości badanych populacji i grup etnicznych aktywność osoczowa ACE u osób z genotypem DD była o około 20% wyższa niż u heterozygot ID, a nawet o blisko 40% wyższa w porównaniu z homozygotami. Istotne znaczenie czynnościowe, a zapewne również łatwość identyfikacji wariantów I i D ACE sprawiły, że polimorfizm ten stał się w pewnym sensie modelowym obiektem badań typu analizy związku, i to w odniesieniu praktycznie do wszystkich chorób układu sercowo-naczyniowego lub ich powikłań [1]. Oceniano również jego związek z farmakogenetyką leków hipotensyjnych, w tym — z farmakogenetyką antagonistów receptora angiotensyny II (ARB, *antagonists receptor blockers*) [1–6]. Zgodnie z dotychczasowym stanem wiedzy w zakresie farmakogenetyki ARB nie określono jednak, jak dotąd, czy i w jakim stopniu efekt hipotensyjny u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze przyjmujących losartan — pierwszy z leków tej klasy — jest uwarunkowany polimorfizmem I/D ACE. Dlatego też celem niniejszej pracy była analiza związku pomiędzy polimorfizmem insercyjno-delecyjnym genu konwertazy angiotensyny I i skutecznością hipotensyjną losartanu w zakresie obniżenia ciśnienia tętniczego u chorych na pierwotne nadciśnienie, przyjmujących ten lek przez 8 tygodni.

## Material i metody

### Badana populacja

Do badania włączono 50 chorych w wieku 22–55 lat (40 mężczyzn i 10 kobiet, średni wiek  $47 \pm 8$  lat), z nadciśnieniem tętniczym [stopień I–II wg Europejskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego

(ESH, *European Society of Hypertension*)/Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (ESC, *European Society of Cardiology*), 2007], u których w pomiarach klinicznych ciśnienia tętniczego wykonanych w trakcie dwóch wizyt stwierdzono ciśnienie skurczowe (SBP, *systolic blood pressure*) równe lub przekraczające 140 mm Hg i/lub ciśnienie rozkurczowe (DBP, *diastolic blood pressure*) równe lub przekraczające 90 mm Hg.

U wszystkich chorych dotychczasowe leczenie hipotensyjne przerwano na co najmniej 2 tygodnie przed włączeniem do badań. W badaniu nie uczestniczyli chorzy, którzy wcześniej otrzymywali antagonistę receptora angiotensyny I lub inhibitor ACE. U wszystkich osób wykonywano całodobową rejestrację ciśnienia tętniczego (ABPM, *ambulatory blood pressure monitoring*) w celu potwierdzenia rozpoznania nadciśnienia tętniczego (kryterium: średnie wartości ciśnienia tętniczego z okresu dnia 135 mm Hg dla SBP i/lub  $\geq 85$  mm Hg dla DBP). Pacjentów z ciężkim nadciśnieniem tętniczym (SBP  $\geq 180$  mm Hg i/lub DBP  $\geq 110$  mm Hg) nie włączano do badania. Z badania wykluczano również chorych z otyłością [wskaźnik masy ciała (BMI, *body mass index*)  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>, obwód talii  $> 94$  cm u mężczyzn i  $> 80$  cm u kobiet — wg kryteriów Międzynarodowej Federacji Diabetologicznej (IDF, *International Diabetes Federation*)], powikłaniami narządowymi nadciśnienia tętniczego oraz współistniejącymi chorobami, między innymi układu sercowo-naczyniowego. W trakcie diagnostyki u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym wykluczono wtórne postacie tego schorzenia.

### Protokół badania

U chorych włączonych do badania wykonywano kliniczne pomiary ciśnienia tętniczego (przed rozpoczęciem leczenia, po 4 oraz 8 tygodniach terapii), ABPM (przed rozpoczęciem leczenia oraz po 8 tygodniach podawania leku) oraz badania biochemiczne (w warunkach wyjściowych). Stężenie angiotensyny II w osoczu oraz aktywność reninową osocza (PRA, *plasma renin activity*) określano w warunkach podstawowych oraz po 8 tygodniach leczenia. Wszystkich chorych przez 8 tygodni leczono antagonistą receptora angiotensyny II — losartanem w dawce 50 mg raz na dobę w godzinach porannych (8.00–10.00). W przypadku braku normalizacji ciśnienia ( $< 140/90$  mm Hg) dawkę leku zwiększano do 100 mg raz na dobę. Dawka leku była zwiększana u 23 chorych (46%). Protokół badania zaakceptowała Tere-nowa Komisja Bioetyczna przy Instytucie Kardiologii w Warszawie. Wszyscy uczestnicy wyrazili świadomą zgodę na udział w badaniu.

### Kliniczne pomiary ciśnienia tętniczego

Kliniczne pomiary ciśnienia tętniczego wykonywano za pomocą sfigmomanometru z mankietem odpowiednio dobranym do obwodu ramienia. Pomiary wykonywano w warunkach standardowych, w pozycji siedzącej, w godzinach porannych, po 10-minutowym odpoczynku. Wykonywano 3 pomiary w odstępie 5 minut. Wyniki pierwszego pomiaru odrzucano, z pozostałych dwóch obliczano średnią wartość.

### Całodobowa rejestracja ciśnienia tętniczego

U wszystkich osób włączonych do badania wykonano ABPM w warunkach ambulatoryjnych, za pomocą rejestratora SpaceLab 90207 (Redmond, Washington, USA). Rejestrator zakładano w godzinach rannych, szerokość mankieta dobierano odpowiednio do obwodu ramienia. Pomiary ciśnienia tętniczego wykonywano co 15 minut w godzinach 6.00–22.00 i co 30 minut w godzinach 22.00–6.00.

### Badania biochemiczne i molekularne

Krew do badań biochemicznych pobierano w warunkach standardowych, po 10–12 godzinach przebywania na czczo. Podstawowe oznaczenia biochemiczne wykonywano za pomocą standardowych metod, ARO i stężenie angiotensyny II oznaczano metodą radioimmunologiczną.

Ponadto, od każdego z pacjentów pobierano jednorazowo 1 ml krwi żyłnej do probówki z 0,02 ml 5% EDTA w celu izolacji genomowego DNA. Próbkę genomowego DNA z leukocytów krwi izolowano przy zastosowaniu nieenzymatycznej nieorganicznej metody ekstrakcji 2% Triton X-100 [7].

Zawierający region polimorficzny I/D fragment szesnastego intronu genu *ACE* amplifikowano w łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR, *polimerase chain reaction*) parą oligonukleotydów: 5'-GCCCTGCAGGTGTCTGCAGCATGT-3', jako primerem sensownym, i 5'-GGATGGCTCTCCCCGCCT-TGTCTC-3', jako primerem antysensownym. Produktami PCR były fragmenty wielkości 319 par zasad (pz) dla allelu D i 597 pz dla allelu I. Ze względu na zjawisko preferencyjnej amplifikacji allelu D, u pacjentów, u których w pierwszej PCR stwierdzano homozygotyczny genotyp DD, wykonywano drugą amplifikację z parą primerów swoistych dla insercji, czyli oligonukleotydem 5'-TGGGACCA-CAGCGCCCGCCACTAC-3', jako primerem sensownym, i 5'-TCGCCAGCCCTCCCATGCCCA-TAA-3', jako primerem antysensownym. Powstały produkt PCR o długości 395 pz był dowodem na obecność genotypu ID. Jego brak potwierdzał genotyp DD [8].

Amplifikacje prowadzono w termocyklerze Mastercycler gradient (Eppendorf). Wszystkie primery syntetyzowano w firmie TIB MolBio. Poza primerami, wszystkie inne odczynniki do PCR pochodziły z firmy MBI Fermentas. Mieszanina reakcyjna o objętości 20 ml zawierała: 40 ng genomowego DNA, 10 nM każdego z trifosforanów deoksyrybonukleotydów (dATP, dTTP, dCTP, dGTP), bufor do PCR [100 mM Tris-HCl (pH 8,8), 500 mM KCl, 0,8% (v/v) Nonidet P40, 15 mM MgCl<sub>2</sub>], po 4 pmoles każdego z pary odpowiednich primerów oraz 0,5 j. termostabilnej polimerazy DNA (Taq DNA Polymerase, recombinant). Po wstępnej 5-minutowej denaturacji DNA w temperaturze 94°C przez 5 minut wykonywano 30 cykli PCR złożonych z 3 segmentów: denaturacja w temperaturze 94°C przez 15 sekund, wiązanie primerów przez 30 sekund w temperaturze 58°C (64°C dla primerów swoistych dla insercji) oraz wydłużanie łańcucha w temperaturze 72°C przez 30 sekund. Amplifikację kończyło 8-minutowe wydłużanie łańcucha prowadzone w temperaturze 72°C. Otrzymane produkty PCR rozdzielano elektroforetycznie w 3-procentowym żelu agarozowym z dodatkiem bromku etydyny. Rozdziały elektroforetyczne dokumentowano, fotografując je w świetle nadfioletowym (Transiluminator 4000, Stratagene) aparatem DS34 Direct Screen Instant Camera w systemie Polaroid.

### Analiza statystyczna

Dane analizowano za pomocą programu SPSS/Win (wersja 15.0; SPSS, Chicago) i zaprezentowano jako średnią  $\pm$  odchylenie standardowe (SD, *standard deviation*). W celu oceny istotności różnicy parametrów między chorymi z różnym genotypem I/D genu *ACE* zastosowano analizę wariancji ANOVA i test LSD *post-hoc* dla oceny istotności różnic pomiędzy dwoma genotypami. Do wyceny zmiennych zależnych zastosowano test Wilcozona. Istotność statystyczną przyjęto dla p mniejszego od 0,05.

### Wyniki

W badanej grupie chorych stwierdzono: 10 homozygot II (20%), 25 heterozygot ID (50%) oraz 15 homozygot DD (30%). Częstość występowania allelu I wynosiła 45%, a allelu D — 55%. Częstość występowania poszczególnych genotypów nie różniła się istotnie od rozkładu teoretycznego wyznaczonego prawem równowagi Hardy-Weinberga.

Po 4 tygodniach leczenia dawkę losartanu zwiększono do 100 mg u 23 osób, u których DBP wynosiło powyżej 90 mm Hg. Charakteryzowały się one zna-

miennie wyższym SBP i DBP w pomiarach tradycyjnych i ABPM, wyższym stężeniem cholesterolu całkowitego i cholesterolu frakcji lipoprotein o małej gęstości (LDL, *low-density lipoprotein*) oraz niższym stężeniem angiotensyny II. Dawkę leku zwiększono u 7 osób z genotypem II (co stanowiło 70% wszystkich pacjentów z genotypem II), u 12 chorych z genotypem ID (48%) i 4 z genotypem DD (27%). Po 8 tygodniach leczenia wartość DBP poniżej 90 mm Hg osiągnięto u wszystkich osób z genotypem DD.

W całej badanej grupie nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy wartościami wyjściowymi a wartościami po 8 tygodniach leczenia losartanem dla następujących zmiennych: stężenie cholesterolu całkowitego w surowicy (odpowiednio:  $5,3 \pm 0,9$  mmol/l vs.  $5,2 \pm 1,1$  mmol/l), stężenie cholesterolu frakcji lipoprotein o dużej gęstości (HDL, *high-density lipoprotein*) w surowicy (odpowiednio:  $1,3 \pm 0,4$  mmol/l vs.  $1,4 \pm 0,5$  mmol/l), stężenie cholesterolu frakcji LDL w surowicy (odpowiednio:  $3,2 \pm 0,9$  mmol/l vs.  $3,0 \pm 1,1$  mmol/l), stężenie triglicerydów w surowicy (odpowiednio:  $1,6 \pm 0,9$  mmol/l vs.  $1,6 \pm 1,0$  mmol/l),

stężenie kreatyniny w surowicy (odpowiednio:  $101,6 \pm 14,3$   $\mu$ mol/l vs.  $100,1 \pm 12,5$   $\mu$ mol/l), stężenie kwasu moczowego w surowicy (odpowiednio:  $4,9 \pm 1,1$  mg/dl vs.  $4,6 \pm 1,3$  mg/dl), glikemia na czczo w osoczu (odpowiednio:  $5,0 \pm 0,8$  mmol/l vs.  $5,2 \pm 0,7$  mmol/l) oraz stężenie potasu w surowicy (odpowiednio:  $4,4 \pm 0,3$  mmol/l vs.  $4,4 \pm 0,3$  mmol/l).

Z kolei w całej grupie ARO oraz stężenie angiotensyny II w osoczu po 8-tygodniowej terapii losartanem były istotnie wyższe w porównaniu z wartościami wyjściowymi. Przy uwzględnieniu genotypu ACE istotne zwiększenie ARO<sub>8</sub> w porównaniu z wartościami ARO<sub>0</sub> stwierdzono tylko u heterozygot ID i homozygot DD. Ponadto, wyjściowa wartość ARO u homozygot DD była istotnie niższa niż u heterozygot ID. Istotne podwyższenie ANGII<sub>8</sub> w porównaniu z wartościami ANGII<sub>0</sub> dotyczyło chorych niezależnie od genotypu ACE (tab. I).

W całej badanej grupie po 8 tygodniach leczenia losartanem stwierdzono w porównaniu z wartościami wyjściowymi istotnie niższe wartości SBP i DBP oraz 24-godzinne DBP (24h-SBP) i 24-godzinne

**Tabela I.** Charakterystyka biochemiczna i kliniczna chorych w zależności od polimorfizmu I/D ACE  
**Table I.** Biochemical and clinical characteristics of patients in regard to the I/D ACE polymorphism

Zmienna	Cała grupa (n = 50)	II (n = 10)	ID (n = 25)	DD (n = 15)	P <sub>ANOVA</sub>
ARO <sub>0</sub> [ng/ml/h]	0,9 ± 1,2	0,8 ± 0,9	1,2 ± 1,5	0,5 ± 0,4*	NS
ARO <sub>8</sub> [ng/ml/h]	1,9 ± 1,8	2,0 ± 2,4	2,1 ± 1,8	1,4 ± 1,1	NS
p <sub>8-0</sub>	< 0,001	NS	< 0,05	< 0,01	
ANG II <sub>0</sub> [μg/24 h]	3,6 ± 3,5	2,6 ± 1,7	5,0 ± 4,3	2,0 ± 1,9*	< 0,05
ANG II <sub>8</sub> [μg/24 h]	15,1 ± 12,4	13,1 ± 14,7	16,6 ± 13,1	14,0 ± 9,7	NS
p <sub>8-0</sub>	< 0,001	< 0,05	< 0,001	< 0,001	
SBP <sub>0</sub> [mm Hg]	151 ± 5	152 ± 5	151 ± 5	150 ± 4	NS
SBP <sub>8</sub> [mm Hg]	135 ± 8	142 ± 10*	135 ± 9	132 ± 3 <sup>#</sup>	< 0,05
p <sub>8-0</sub>	< 0,001	< 0,01	< 0,001	< 0,001	
DBP <sub>0</sub> [mm Hg]	100 ± 3	102 ± 3	100 ± 3	100 ± 3	NS
DBP <sub>8</sub> [mm Hg]	86 ± 7	91 ± 7	87 ± 7	83 ± 4 <sup>#</sup>	< 0,01
p <sub>8-0</sub>	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	
24h-SBP <sub>0</sub> [mm Hg]	134 ± 9	138 ± 9	134 ± 10	132 ± 5	NS
24h-SBP <sub>8</sub> [mm Hg]	129 ± 11	137 ± 12*	128 ± 11	125 ± 7 <sup>#</sup>	< 0,05
p <sub>8-0</sub>	< 0,001	NS	< 0,01	< 0,01	
24h-DBP <sub>0</sub> [mm Hg]	86 ± 5	87 ± 3	85 ± 6	85 ± 5	NS
24h-DBP <sub>8</sub> [mm Hg]	81 ± 7	86 ± 8*	80 ± 7	77 ± 5 <sup>#</sup>	< 0,01
p <sub>8-0</sub>	< 0,001	NS	< 0,01	< 0,001	

p<sub>8-0</sub> — porównanie wyjściowej wartości danego parametru z jego wartością po 8 tygodniach podawania losartanu

p<sub>ANOVA</sub> — porównanie wartości danego parametru pomiędzy chorymi o różnych genotypach (II vs. ID vs. DD)

\*p < 0,05 w porównaniu z grupą ID, <sup>#</sup>p < 0,05 w porównaniu z grupą II

go DBP (24h-DBP) (tab. I). Z wyjątkiem braku istotnego obniżenia 24h-SBP<sub>8</sub> i 24h-DBP<sub>8</sub> u homozygot II, analogiczne zmiany stwierdzono również przy uwzględnieniu podziału badanej grupy według genotypów *ACE*. Ponadto, SBP<sub>8</sub> i 24h-SBP<sub>8</sub> u homozygot II były istotnie wyższe niż u heterozygot ID i u homozygot DD. Z kolei, DBP<sub>8</sub> i 24h-DBP<sub>8</sub> u homozygot DD były znacząco niższe w porównaniu z homozygotami II. U heterozygot ID wartość 24h-DBP<sub>8</sub> była również istotnie niższa niż u homozygot II.

## Dyskusja

Piśmiennictwo poświęcone uwarunkowanym genetycznie różnicom farmakodynamiki sartanów jest dość obszerne i w dużym stopniu koncentruje się na analizie polimorfizmu genów kodujących składowe układu renina–angiotensyna–aldosteron, a zwłaszcza polimorfizmu I/D genu *ACE* [1–3].

Wyniki pracy wskazują, że efekt hipotensyjny uzyskany w czasie 8-tygodniowego leczenia losartanem był w największym stopniu wyrażony u chorych z polimorfizmem DD genu *ACE*. Warto podkreślić, że działanie to udokumentowano zarówno na podstawie tradycyjnych pomiarów ciśnienia tętniczego, jak i na podstawie ABPM.

Interesujące jest, że hipotensyjne działanie losartanu było w największym stopniu wyrażone w podgrupie, w której wyjściowe stężenie angiotensyny II w osoczu było najniższe w porównaniu z osobami z polimorfizmem II i ID genu *ACE*. Należy również podkreślić, że w 3 grupach chorych nie stwierdzono różnic dotyczących wieku, BMI i wyjściowych wartości ciśnienia tętniczego (zarówno w pomiarach tradycyjnych, jak i w ABPM).

W 2001 roku Kurland i wsp. [4] stwierdzili, że efekt 12-tygodniowej monoterapii irbesartanem 43 chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze włączonych do wspomnianego powyżej badania klinicznego *Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol* (SILVHIA) jest uwarunkowany polimorfizmem I/D genu konwertazy angiotensyny I.

Autorzy zaobserwowali, że średnie obniżenie DBP u homozygot II było istotnie większe niż u heterozygot ID lub homozygot DD (odpowiednio: 18,6 i 8 mm Hg). Podobny, choć nieistotny trend stwierdzono również dla zmian SBP (odpowiednio: II — 24 mm Hg, ID — 12 mm Hg i DD — 13 mm Hg) [4]. Rok później Ortlepp i wsp. [5] na podstawie wyników 4-tygodniowego badania prospektywnego 114 chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze leczonych kandesartanem stwierdzili brak istotnego powiązania pomiędzy polimorfizmem I/D *ACE* a wielkością efektu hipotensyjnego.

Do analogicznego wniosku doszli także Redon i wsp. [6], którzy opublikowali wyniki trwającej 12 miesięcy obserwacji 206 chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze leczonych telmisartanem. Natomiast wyniki badań Andersena i wsp. [9, 10] sugerują, że u chorych na cukrzycę typu I powikłaną nefropatią u homozygot II oraz u homozygot DD losartan wykazuje podobne krótko- i długoterminowe działanie hipotensyjne i nefroprotektoryjne.

Należy jednak podkreślić, że wyniki badań wymienionych autorów nie wskazują na jednoznaczny związek pomiędzy efektem hipotensyjnym a określonym rodzajem polimorfizmu I/D genu *ACE*. Warto też pamiętać, że prowadzono je w różnych grupach chorych z nadciśnieniem tętniczym, między innymi ze współistniejącą cukrzycą typu 1.

W dalszej części dyskusji w zarysie przedstawiono ogólne zagadnienia farmakogenetyki związane z działaniem hipotensyjnym wywieranym przez sartany.

Farmakogenetyka jest dyscypliną nauki, która zajmuje się dziedzicznymi różnicami w odpowiedzi organizmu na lek, a przez to również przewidywaniem reakcji na lek w praktyce klinicznej. Pokrewna tej dyscyplinie farmakogenomika skupia się na identyfikacji w genomie nowych potencjalnych punktów uchwytu dla leków, a przez to także na celowanym wyborze substancji i związków chemicznych dla rozwoju nowych leków. W ostatnim czasie mianem farmakogenomiki coraz częściej określa się badania farmakogenetyczne obejmujące analizę wariantów więcej niż jednego genu, a niekiedy nawet analizę zmienności genetycznej w zakresie pełnego genomu [1].

W klasycznym ujęciu przedmiotem badań farmakogenetyki są wrodzone różnice w metabolizmie leków spowodowane polimorfizmem genów kodujących enzymy ich biotransformacji. Polimorfizm ten, determinowany obecnością co najmniej dwóch alleli, niekiedy różniących się w swojej sekwencji tylko pojedynczymi nukleotydami (SNP, *single nucleotide polymorphism*), w obrębie regionów kontrolujących ekspresję genów enzymów biotransformacji leków lub też w obrębie samych genów, może wpływać na aktywność tych enzymów, zmieniając, odpowiednio: nasilenie procesu transkrypcji, a w konsekwencji liczbę cząsteczek białka lub też sekwencję części kodującej, a przez to również strukturę aminokwasową enzymu. Obecnie obszar zainteresowania farmakogenetyki obejmuje już praktycznie wszystkie genetyczne aspekty działania leków, w tym także polimorfizm genów kodujących białka stanowiące punkt ich uchwytu (receptory, enzymy, kanały jonowe itd.) lub ściśle z nimi powiązane składowe wewnątrzkomórkowych szlaków transdukcji sygnału (m.in. białka G, kinazy i fosfatazy białkowe, fosfolipazy, cyklazy, fosfodiesterazy itd.) [1].

Z klinicznego punktu widzenia podstawowe znaczenie w metabolizmie leków mają reakcje utleniania (m.in. N-hydroksylacja, S-, N- i O-dealkilacja, oksydacyjna dezaminacja lub hydroksylacja pierścieni aromatycznych i łańcuchów alifatycznych), katalizowane przez wątrobowe izoenzymy cytochromu P450 (CYP) [1].

Izoenzym kodowany przez gen *CYP2C9* katalizuje przemiany wielu ważnych leków, w tym między innymi losartanu. Produktem tej reakcji dla losartanu jest jego czynny metabolit (E-3174), który w głównej mierze warunkuje hipotensyjny efekt leku [11]. Dotychczas zidentyfikowano co najmniej 12 wariantów genu *CYP2C9*, z tym że u osób rasy białej oprócz allelu *CYP2C9\*1* (allel typu dzikiego) wykrywa się głównie allel *CYP2C9\*2* (mutacja R144C w eksonie 3) lub *CYP2C9\*3* (mutacja I359L w eksonie 7). Rzadką odmianą allelu\*3 jest substytucja izoleucyny przez treoninę (I359T). Częstość zmutowanych alleli w populacji europejskiej szacuje się: dla wariantu \*2 — na 10,7–12,5%, a dla wariantu \*3 — na 7,4–8,5% [1]. W 2001 roku Yasar i wsp. [11] wykazali, że w warunkach *in vitro* oksydacja losartanu katalizowana przez enzym z frakcji mikrosomalnej wątroby osób z przynajmniej jednym allelem *CYP2C9\*3* lub homozygot \*2/\*2 jest znacznie obniżona w porównaniu z homozygotami typu dzikiego (dwa allele *CYP2C9\*1*). Wyniki badań farmakokinetycznych potwierdzają, że również *in vivo* polimorfizm genu *CYP2C9* odgrywa istotną rolę w kształtowaniu międzysobicznych różnic w procesie oksydacji i aktywacji losartanu [12, 13].

Wyniki badań SILVHIA sugerują, że polimorfizm *CYP2C9* ma istotny wpływ na skuteczność terapii hipotensyjnej z zastosowaniem innego preparatu z klasy sartanów, irbesartanu. Prawdopodobnie w wyniku wolniejszej eliminacji irbesartanu (w odróżnieniu od losartanu nie jest on pro-lekiem) jego skuteczność hipotensyjna u chorych z allelem *CYP2C9\*2* jest większa w porównaniu z homozygotami typu dzikiego (*CYP2C9\*1/CYP2C9\*1*) [14].

Podsumowując, wyniki przedstawionego badania wskazują na związek pomiędzy efektem hipotensyjnym w trakcie leczenia antagonistą receptora angiotensyny II — losartanem — a polimorfizmem I/D genu *ACE*. Należy oczekiwać dalszych badań, między innymi uwzględniających większe liczebnie grupy chorych.

## Wnioski

Wyniki badania wskazują na związek pomiędzy polimorfizmem I/D genu *ACE* a działaniem hipotensyjnym wywołanym przez antagonistę receptora angiotensyny II — losartan.

## Streszczenie

**Wstęp** Polimorfizm insercyjno/delecyjny (I/D) genu *ACE* kodującego konwertazę angiotensyny I jest najchętniej analizowanym i najlepiej przebadanym wariantem sekwencji w genomie. Jego istotne znaczenie czynnościowe sprawia, że jest częstym obiektem badań typu analizy związku w odniesieniu do praktycznie wszystkich chorób układu sercowo-naczyniowego i ich powikłań. Trwają badania dotyczące związku polimorfizmu I/D genu *ACE* z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym oraz farmakogenetyką leków hipotensyjnych, w tym antagonistów receptora angiotensyny II (ARB). Celem niniejszej pracy była ocena związku pomiędzy polimorfizmem I/D genu *ACE* a działaniem hipotensyjnym losartanu (podawanego przez 8 tygodni) u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze.

**Materiał i metody** Do badania włączono 50 osób (40 mężczyzn i 10 kobiet) w wieku średnio  $47 \pm 8$  lat, z nadciśnieniem tętniczym (stopień I–II wg ESH/ESC, 2007). Wszyscy chorzy przez 8 tygodni byli poddawani leczeniu antagonistą receptora angiotensyny II — losartanem w dawce 50 mg raz na dobę. W przypadku braku normalizacji ciśnienia (< 140/90 mm Hg) po 4 tygodniach zwiększano dawkę leku do 100 mg raz na dobę. U wszystkich osób włączonych do badania wykonywano pomiary ciśnienia tętniczego metodą tradycyjną (przed oraz po 4 i 8 tygodniach leczenia), całodobową rejestrację ciśnienia tętniczego (ABPM) i podstawowe badania biochemiczne przed i po 8 tygodniach leczenia; oznaczano też stężenia angiotensyny II w osoczu i aktywność reninową osocza (ARO) w warunkach podstawowych oraz po 8 tygodniach terapii. Genotypy I/D *ACE* określano metodą łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR).

**Wyniki** W badanej grupie chorych stwierdzono: 10 homozygot II (20%), 25 heterozygot ID (50%) oraz 15 homozygot DD (30%). Częstość występowania allelu I wynosiła 45%, a allelu D — 55%. Między pacjentami o różnych genotypach nie stwierdzono istotnych różnic w zakresie wieku, płci, wskaźnika masy ciała, parametrów przemiany lipidowej oraz wyjściowych wartości skurczowego (SBP) i rozkurczowego (DBP) ciśnienia tętniczego. Po 8 tygodniach leczenia u wszystkich pacjentów stwierdzono istotne obniżenie zarówno SBP, jak i DBP w pomiarach tradycyjnych oraz ABPM. Dawkę losartanu zwiększono do 100 mg u 23 osób, w tym u 7 (70%) z genotypem II, 12 z genotypem ID (48%) i 4 z genotypem DD (27%). Po 8 tygodniach leczenia wartość DBP poniżej 90 mm Hg osiągnięto u wszystkich chorych z genotypem DD. Zarówno wartości SBP,

jak i DBP po 8 tygodniach leczenia były istotnie niższe u osób z genotypem DD niż u pacjentów z allelem I (ID lub II).

**Wnioski** Wyniki badania wskazują na związek pomiędzy polimorfizmem I/D genu *ACE* a działaniem hipotensyjnym wywieranym przez antagonistę receptora angiotensyny II — losartan.

**słowa kluczowe:** farmakogenetyka, nadciśnienie tętnicze, losartan, polimorfizm *ACE*

*Nadciśnienie Tętnicze 2007, tom 11, nr 6, strony 498–504.*

#### Podziękowanie

Autorzy pragną podziękować firmie Adamed za pomoc w realizacji projektu badawczego.

#### Piśmiennictwo

1. Ciechanowicz A. Farmakogenetyka nadciśnienia tętniczego. W: Januszewicz A., Januszewicz W., Szczepańska-Sadowska E., Sznajderman M. Nadciśnienie tętnicze. Medycyna Praktyczna, Kraków 2007: 1137–1144.
2. Koopmans R.P., Insel P.A., Michel M.C. Pharmacogenetics of hypertension treatment: a structured review. *Pharmacogenetics* 2003; 13: 706–713.
3. Arnett D.K., Claas S.A., Glasser S.P. Pharmacogenetics of antihypertensive treatment. *Cascul. Pharmacol.* 2006; 44: 107–118.
4. Kurland L., Melhus H., Karlsson J. i wsp. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism predicts blood pressure response to angiotensin II receptor type I antagonist treatment in hypertensive patients. *J. Hypertens.* 2001; 19: 1783–1787.
5. Ortlepp J.R., Hanrath P., Mevissen V. i wsp. Variants of the CYP11B2 gene predict response to therapy with candesartan. *Eur. J. Pharmacol.* 2002; 445: 151–152.
6. Redon J., Luque-Otero M., Martell N. i wsp. Renin-angiotensin system gene polymorphisms: relationship with blood pressure and microalbuminuria in telmisartan-treated hypertensive patients. *Pharmacogenomics J.* 2005; 5: 14–20.
7. Lahiri D.K., Bye S., Nurnberger J.I. Jr i wsp. A non-organic and non-enzymatic extraction method gives higher yields of genomic DNA from whole-blood samples than do nine other methods tested. *J. Biochem. Biophys. Methods* 1992; 25: 193–205.
8. Lindpaintner K., Pfeiffer M.A., Kreutz R. i wsp. A prospective evaluation of an angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart disease. *N. Engl. J. Med.* 1995; 332: 706–711.
9. Andersen S., Tarnow L., Cambien F. i wsp. Renoprotective effects of losartan in diabetic nephropathy: interaction with ACE insertion/deletion genotype? *Kidney Int.* 2002; 62: 192–198.
10. Andersen S., Tarnow L., Cambien F. i wsp. Long-term renoprotective effects of losartan in diabetic nephropathy: interaction with ACE insertion/deletion genotype? *Diabetes Care* 2003; 26: 1501–1506.
11. Yasar U., Tybring G., Hidestrand M. i wsp. Role of CYP2C9 polymorphism in losartan oxidation. *Drug Metab. Disp.* 2001; 29: 1051–1056.
12. Yasar U., Forslund-Bergengren C., Tybring G. i wsp. Pharmacokinetics of losartan and its metabolite E-3174 in the relation to the CYP2C9 genotype. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2002; 71: 89–98.
13. Babaoglu M.O., Yasar U., Sandberg M. i wsp. CYP2C9 genetic variants and losartan oxidation in a Turkish population. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2004; 60: 337–342.
14. Hallberg P., Karlsson J., Kurland L. i wsp. The CYP2C9 genotype predicts the blood pressure response to irbesartan: results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol (SILVHIA) trial. *J. Hypertens.* 2002; 20: 2089–2093.