

Częstość polimorfizmu Gly972Arg genu substratu receptora insuliny 1 (IRS-1) u chorych z samoistnym nadciśnieniem tętniczym

Frequency of Gly972Arg polymorphism of the insulin receptor substrate 1 (IRS-1) gene in essential hypertension

Summary

Introduction Difficulties in studies on the genetic background of arterial hypertension are compounded when hypertension is part of the complex polymetabolic syndrome together with obesity, type 2 diabetes, and dyslipidemia. Atherogenicity in this case is fuelled by insulin resistance present in some 50% of patients with hypertension. The present study was undertaken to determine the frequency of Gly972Arg polymorphism of the cytoplasmic insulin receptor substrate-1 (IRS-1) gene in a well-defined, homogenous group of patients with essential hypertension.

Material and methods The study group comprised 115 non-obese (BMI 24.72 ± 1.93 kg/m²) patients, aged 27.48 ± 5.15 years, with essential and uncomplicated arterial hypertension, while 46 healthy persons aged 28.0 ± 4.39 years (BMI 22.6 ± 2.16 kg/m²) formed the control group. There were no cases of diabetes or dyslipidemia in the groups. A single sample of 5 ml venous blood was drawn and genomic DNA was isolated for genotyping with the polymerase chain reaction as described by Yamade *et al.*

Results The GA genotype was disclosed in 16 (13.9%) patients and in just 2 controls (4.3%), one of them (2.2%) being AA homozygote. The χ^2 test did not disclose significant differences between both groups in the distribution of genotypes.

Conclusion The distribution of Gly972Arg polymorphism of the IRS-1 gene appears to be similar in hypertensives and

normotensives suggesting that this polymorphism is not directly involved in the pathogenesis of arterial hypertension.

key words: arterial hypertension, insulin resistance, Gly972Arg polymorphism of the insulin receptor substrate-1 gene

Arterial Hypertension 2006, vol. 10, no 3, pages 174–179.

Wstęp

Pierwotne nadciśnienie tętnicze jest chorobą o złożonej etiologii, a w jej powstawaniu biorą udział zarówno czynniki genetyczne, jak i środowiskowe. Nadciśnienie tętnicze jest częstą składową zespołu metabolicznego, obok otyłości centralnej, zaburzeń lipidowych i węglowodanowych [1]. Są to czynniki aterogenne, które znacznie zwiększają ryzyko wystąpienia epizodu sercowo-naczyniowego i w dużej mierze wpływają na ogólną śmiertelność [2]. Także w Polsce jest to ważny i wciąż narastający problem, ponieważ — jak szacują autorzy najnowszego badania NATPOL PLUS — zespół metaboliczny dotyczy około 20%, zaś nadciśnienie tętnicze — 29% dorosłych mieszkańców Polski [3].

U podłoża tak rozpowszechnionego zespołu metabolicznego leży insulinoporność. Według Reavena [4] przyczynia się ona do powstawania nadciśnienia przynajmniej u połowy pacjentów z tą chorobą. Insulinoporność często stwierdza się u dzieci rodziców z nadciśnieniem tętniczym, które mają prawidłowe ciśnienie, co sugeruje wspólne genetyczne predyspo-

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: joannadziwura@epf.pl



Copyright © 2006 Via Medica, ISSN 1428–5851

zycje do insulinooporności i nadciśnienia [5, 6]. Mogą one się rozwijać w następstwie defektu pojedynczego genu lub, częściej, w wyniku dziedziczenia wielogenowego i ulegać modyfikacji przez czynniki zewnętrzne, dietę i tryb życia. Wśród możliwych genów kandydatów bierze się pod uwagę geny kodujące receptor insuliny oraz kluczowe białka przekaźnictwa insuliny. Opisane dotychczas mutacje receptora insuliny występują jednak bardzo rzadko w populacji ogólnej [7]. Bardziej powszechne są polimorfizmy genów kodujących cytoplazmatyczny substrat receptora insuliny (IRS, *insulin receptor substrate*). Ponieważ najważniejsze efekty działania insuliny wiążą się z IRS-1 i IRS-2, mutacje w zakresie tych białek prowadzą do istotnych zaburzeń metabolicznych, w przeciwieństwie do IRS-3 czy IRS-4 [8–11].

W ostatnim czasie pojawiły się pojedyncze doniesienia sugerujące, że występowanie polimorfizmu genu kodującego cytoplazmatyczny substrat receptora insuliny 1 (IRS-1), gdzie w miejscu 972 dochodzi do zamiany glicyny na argininę, może się wiązać z insulinoopornością, cukrzycą typu 2 i otyłością [12–16]. Mimo przesłanek teoretycznych, tylko nieliczni autorzy podjęli ten problem w aspekcie nadciśnienia tętniczego.

Celem pracy było porównanie częstości polimorfizmu Gly972Arg genu IRS-1 u chorych z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym i u osób z prawidłowymi wartościami ciśnienia.

Material i metody

Badania przeprowadzono u 115 chorych z niepowikłanym pierwotnym nadciśnieniem tętniczym I stopnia (nadciśnienie łagodne) lub II stopnia (nadciśnienie umiarkowane) według zaleceń Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego (PTNT) [17], w wieku $27,48 \pm 5,15$ roku. Badaniami objęto wyłącznie chorych bez otyłości, bez niewydolności nerek, krążenia i wątroby oraz bez zaburzeń rytmu serca i bez obrzęków. Szczegółową charakterystykę kliniczną i biochemiczną przedstawiono w tabeli I.

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 co najmniej 15-minutowym spoczynku. Do dalszych obliczeń przyjęto wartość średnią ze wszystkich pomiarów zgodnie z zaleceniami PTNT [17]. Wykluczenie nadciśnienia wtórnego ustalono w warunkach szpitalnych, stosując rutynowe badania kli-

niczne, biochemiczne i radiologiczne. Do badań kwalifikowano wyłącznie osoby obciążone rodzinnym nadciśnieniem tętniczym. Za obciążenie rodzinne uznano występowanie nadciśnienia tętniczego u co najmniej jednego z rodziców.

Grupę kontrolną stanowiło 46 zdrowych ochotników, w wieku $28,0 \pm 4,39$ roku, bez otyłości, z prawidłowymi wartościami ciśnienia tętniczego.

U wszystkich badanych oznaczono stężenia glukozy, cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji LDL i HDL, triglicerydów, insuliny i kreatyniny w surowicy oraz sodu, potasu w surowicy i dobowej zbiórce moczu. U badanych osób nie stwierdzono zaburzeń w zakresie gospodarki węglowodanowej i lipidowej.

W celu izolacji DNA od każdego badanego pobierano jednorazowo 5 ml krwi żyłnej do próbek z 0,1 ml 5-procentowego kwasu etylenodiaminotetraoctowego (EDTA). Genomowy DNA z leukocytów izolowano przy użyciu zestawów QIAamp Blood DNA Mini Kit (QIAGEN).

Do oceny polimorfizmu G2910A IRS w amplifikacji DNA w łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR, *polymerase chain reaction*) zastosowano parę oligonukleotydów: 5'-GCAGCCTGGCAGGAGAG-3' — jako primer sensowny i 5'-CTCACCTCCTCTGCAGC-3' — jako primer antysensowny [18]. Produktem PCR z tymi primerami był fragment długości 221 par zasad (pz) zawierający polimorfizm G2910A. Próbkę DNA (40 ng) amplifikowano w roztworze o końcowej objętości 20 μ l zawierającym 4 pM każdego z pary starterów, 2,5 mM każdego z trifosforanów deoksyrybonukleotydów (dATP, dTTP, dCTP, dGTP), bufor do PCR (stężenie $MgCl_2$ wynosiło 1,5 mM) i 0,5 jednostki polimerazy Taq (MBI Fermentas). Amplifikację 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 s, wiązanie starterów w temperaturze 60°C przez 40 s oraz elongacja w temperaturze 72°C przez 40 s. Łańcuchową reakcję polimerazy kończyła 8-minutowa elongacja łańcucha w temperaturze 72°C. Otrzymane amplikony inkubowano przez 3 godziny w temperaturze 37°C z 2,5 j. enzymu restrykcyjnego *Eco RII* (MBI Fermentas), a następnie rozdzielano elektroforetycznie w 3-procentowym żelu agarozowym wybarwianym bromkiem etydyny. W celu dokumentacji wyników wykonywano zdjęcia żeli w nadfiolecie (ryc. 1).

Elektrolity (sód i potas) w surowicy i w moczu oznaczano metodą fotometrii płomieniowej, zaś stężenie kreatyniny w surowicy, wykorzystując auto-analizator firmy Technicon. Glukozę oznaczono metodą enzymatyczną (zestaw Cormay z heksoki-

Tabela I. Charakterystyka kliniczna i biochemiczna chorych z nadciśnieniem tętniczym (HT) oraz grupy kontrolnej (NT)
Table I. Clinical and biochemical characteristics of hypertensive patients (HT) and control group (NT)

Cecha	HT (n = 115)		NT (n = 46)	
	Średn. SD	Mediana Zakr. med.	Średn. SD	Mediana Zakr. med.
Wiek (lata)	27,48 5,15	28,00 24,0–31,0	28,0 4,39	29,0 24,0–32,0
BMI [kg/m ²]	24,72 1,93	24,90 23,9–26,0	22,60 2,16	22,90 21,0–24,0
BPs [mm Hg]	150,09 7,10	150,0 145–155,0	114,78 10,38	115,0 105,0–125,0
BPd [mm Hg]	97,43 3,20	95,0 95,0–100,0	73,91 5,67	75,0 70,0–80,0
MAP [mm Hg]	114,99 3,78	113,3 111,7–116,7	87,50 6,62	87,50 81,7–93,3
Glukoza [mg/dl]	89,03 6,54	89,0 84,0–94,0	87,85 8,27	87,0 82,0–94,0
Insulina [uIU/ml]	8,01 4,49	7,10 4,9–10,2	10,08 7,81	7,60 4,7–12,2
Stężenie cholesterolu całkowitego [mg/dl]	199,49 29,18	201,0 184,0–217,0	189,28 24,44	191,0 176,0–206,0
Stężenie cholesterolu frakcji HDL [mg/dl]	48,29 12,0	46,0 42,0–54,0	53,80 12,18	52,0 45,0–60,0
Stężenie cholesterolu frakcji LDL [mg/dl]	128,33 32,71	133,40 106,4–151,2	113,29 26,08	112,1 98,2–131,0
Stężenie triglicerydów [mg/dl]	114,77 39,09	104,0 92,0–136,0	111,22 40,08	110,0 85,0–150,0
Stężenie kreatyniny [mg/dl]	0,87 0,13	0,9 0,8–1,0	0,74 0,16	0,73 0,6–0,9
Stężenie sodu [mmol/l]	140,70 2,23	141,0 139,0–142,6	140,74 2,68	141,0 138,3–143,0
Stężenie potasu [mmol/l]	4,35 0,36	4,30 4,1–4,57	4,34 0,37	4,33 4,02–4,6
Stężenie sodu w dobowej zbiórce moczu [mmol/24h]	123,71 11,75	123,3 116,0–132,0	123,4 11,55	124,0 116,0–132,0
Stężenie potasu w dobowej zbiórce moczu [mmol/24h]	42,27 19,1	36,00 32,0–45,0	38,08 11,37	36,0 33,0–42,0

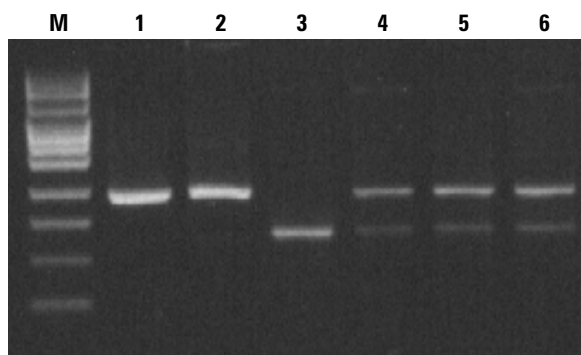
nazą). Stężenie insuliny oznaczano metodą immunoradiometryczną (zestaw Insulina — IRMA firmy BioSource). Stężenia lipidów (cholesterol całkowity, cholesterol frakcji LDL i HDL, triglicerydy) mierzono, wykorzystując metodę enzymatyczną (zestaw Integra).

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu pakietu Statistica (StatSoft Inc., Stany Zjednoczone). Analizę zmiennych niemierzalnych przeprowadzono za pomocą testu Chi-kwadrat (χ^2) Pearsona.

Wyniki

Dla wszystkich analizowanych próbek DNA uzyskano dobrej jakości rozdziały elektroforetyczne ampikonów poddanych analizie restrykcyjnej. Pozwoliło to na wiarygodne i jednoznaczne określenie indywidualnych genotypów.

W analizowanym fragmencie DNA istnieje naturalne miejsce restrykcyjne dla enzymu *Eco RII* i stąd po inkubacji allelu typu dzikiego (G2910) z tą re-



Rycina 1. Wykrywanie polimorfizmu Gly972Arg genu IRS-1

Figure 1. Detection of IRS-1 gene polymorphism Gly972Arg

M, wskaźnik wielkości molekularnej DNA pUC Marker Mix 8 (MBI Fermentas)
Ścieżka 1, 2 — genotyp GG (typ dziki); 3 — genotyp AA; 4, 5, 6 — genotyp GA

Tabela II. Rozkład częstości genotypów IRS-1 w grupie chorych z nadciśnieniem tętniczym (HT) oraz w grupie kontrolnej (NT)

Table II. Distribution frequency of the genotype IRS-1 in hypertensive patients (HT) and control group (NT)

Grupa	Gly972Arg GA	Gly972Gly GG	Arg972Arg AA
HT n = 115	16 13,9%	99 86,1%	0 0%
NT n = 46	2 4,3%	43 93,5%	1 2,2%

$\chi^2 = 1,91$; NS ($p = 0,167$)

stryktazą powstają fragmenty restrykcyjne o długości 6 i 215 pz. W zmutowanym allele A2910 dochodzi do nabycia dodatkowego miejsca restrykcyjnego dla *Eco RII* i po trawieniu powstają fragmenty restrykcyjne o długości 6, 51 i 164 pz.

Analizę PCR dla polimorfizmu Gly972Arg genu IRS-1 przedstawiono na rycinie 1.

W tabeli II przedstawiono porównanie rozkładu częstości genotypów genu IRS-1 w grupie chorych z nadciśnieniem tętniczym oraz w grupie kontrolnej. 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. U 46 zdrowych osób genotyp GA wystąpił tylko w 2 przypadkach (4,3%), genotyp AA — w 1 przypadku (2,2%), zaś pozostałe 43 osoby (93,5%) miały genotyp GG. W teście χ^2 nie stwierdzono znamiennej różnicy w zakresie częstości polimorfizmu Gly972Arg u chorych z nadciśnieniem tętniczym w porównaniu z osobami z prawidłowymi wartościami ciśnienia.

Dyskusja

W 1993 roku Almind i wsp. [19] opisali po raz pierwszy polimorfizm genu IRS-1, gdzie w miejscu 972 dochodzi do zamiany glicyny na argininę. Polimorfizm Gly972Arg jest jedną z bardziej rozpowszechnionych form mutacji genu IRS-1, o typie tranzykcji G2910A. Częstość jego występowania w poszczególnych populacjach na świecie wykazuje znaczne zróżnicowanie. Największe rozpowszechnienie polimorfizmu Gly972Arg genu IRS-1 stwierdzono u przedstawicieli rasy białej (według różnych doniesień ok. 5–15%) [14, 19–22], pośrednie — u Japończyków (ok. 4%) [18], natomiast najmniejsze — u Tajwańczyków (ok. 1%) [23] i u Indian Pima, gdzie właściwie nie znaleziono go wcale [24].

Do badań własnych kwalifikowano chorych z nadciśnieniem tętniczym łagodnym oraz osoby z prawidłowymi wartościami ciśnienia, bez otyłości i cukrzycy. W tak wyselekcjonowanych grupach, polimorfizm Gly972Arg genu IRS-1 stwierdzono u 16 chorych z nadciśnieniem tętniczym (13,9%) oraz u 3 osób z grupy kontrolnej (6,5%). W analizie statystycznej nie wykazano istotnej różnicy między tymi grupami. Rozkład częstości polimorfizmu mieścił się w zakresie opisywanym w piśmiennictwie u osób rasy białej [14, 19–22].

Według danych z piśmiennictwa rozpowszechnienie polimorfizmu genu IRS-1 rozpatrywano nie tylko pod względem etnicznego zróżnicowania populacji, ale również ich profilu metabolicznego. Niektórzy badacze wykazali jego większą częstość u chorych z zaburzeniami tolerancji glukozy [18], cukrzycą typu 2 [14] i otyłością [12, 15] czy chorobą niedokrwienną serca [25], choć inni nie potwierdzili tych obserwacji [21, 22, 26–28]. Interesujący jest fakt, że wśród osób otyłych odsetek nosicieli allele A sięgał nawet 25% [13]. Do badań własnych wybierano tylko osoby z prawidłową masą ciała, bez cukrzycy i zaburzeń lipidowych, co może tłumaczyć stwierdzoną u nich mniejszą częstość tej mutacji.

W przytoczonych pracach nie zajmowano się oceną bezpośredniego związku polimorfizmu Gly972Arg z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym. Jedynie Perticone i wsp. [29] opisali 16 osób heterozygotycznych GA wśród 100 chorych rasy białej z nadciśnieniem tętniczym. Autorzy ci jednak nie porównali częstości tego polimorfizmu w zdrowej populacji. Dodatkowo u chorych z nadciśnieniem tętniczym i mutacją genu IRS-1 stwierdzili oni znaczne zaburzenie czynności śródbłonka w zakresie wydzielania tlenu azotu, co także może sprzyjać incydentom sercowo-naczyniowym [29].

Uzyskane wyniki własne oraz wcześniejsze dane z piśmiennictwa nie pozwalają jednak przypisywać

mutacji Gly972Arg genu IRS-1 kluczowej roli w rozwoju pierwotnego nadciśnienia tętniczego. Jego rozpowszechnienie wśród chorych z nadciśnieniem także w populacji polskiej jest zbyt małe, aby uznać je za bezpośrednią przyczynę tej częstej choroby. Nie można jednak wykluczyć pośredniego udziału polimorfizmu genu IRS-1 w patogenezie nadciśnienia, poprzez uruchamianie mechanizmów insulinooporności, jednak zagadnienie to wymaga dalszych badań.

Wnioski

Polimorfizm Gly972Arg genu IRS-1 występuje z taką samą częstością u nieotyłych chorych z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym i u osób z prawidłowymi wartościami ciśnienia i z prawidłową masą ciała, co sugeruje, że nie ma on bezpośredniego wpływu na rozwój nadciśnienia tętniczego.

Streszczenie

Wstęp Ocenę genetycznego podłoża nadciśnienia tętniczego komplikuje fakt, że jest ono częścią złożonego zespołu metabolicznego, obejmującego otyłość, cukrzycę typu 2 i dyslipidemię. U podłoża tych ategorenych zaburzeń leży insulinooporność, której częstość w populacji chorych z nadciśnieniem wynosi około 50%. Celem niniejszej pracy była ocena częstości polimorfizmu Gly972Arg genu cytoplazmatycznego substratu receptora insulinowego-1 (IRS-1) w dobrze scharakteryzowanej, jednorodnej grupie chorych z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym.

Materiał i metody Grupę badaną stanowiło 115 chorych na pierwotne, niepowikłane nadciśnienie tętnicze w wieku $27,48 \pm 5,15$ roku, bez otyłości (wskaźnik masy ciała [BMI] $24,72 \pm 1,93 \text{ kg/m}^2$) i 46 zdrowych osób w wieku $28,0 \pm 4,39$ roku (BMI $22,6 \pm 2,16 \text{ kg/m}^2$). U badanych osób nie występowały cukrzyca ani zaburzenia lipidowe. Od każdego badanego pobrano jednorazowo 5 ml krwi żyłnej w celu izolacji genomowego DNA. Genotypy w zakresie badanego polimorfizmu identyfikowano przy użyciu łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR), według protokołu opisanego przez Yamadę i wsp. [18].

Wyniki Wśród 115 chorych z nadciśnieniem tętniczym obecność heterozygotycznej formy mutacji (GA) stwierdzono u 16 osób (13,9%), zaś u 46 zdrowych osób genotyp GA wystąpił tylko w 2 przypadkach (4,3%), przy czym 1 osoba była homozygotą AA (2,2%). Za pomocą testu χ^2 nie stwierdzono znamiennej różnicy w częstości polimorfizmu Gly972Arg

u chorych z nadciśnieniem tętniczym w porównaniu z osobami z prawidłowymi wartościami ciśnienia.

Wnioski Polimorfizm Gly972Arg genu IRS-1 występuje z taką samą częstością u chorych z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym i u osób z prawidłowymi wartościami ciśnienia w badanej populacji, co sugeruje, że nie ma on bezpośredniego wpływu na rozwój nadciśnienia tętniczego.

słowa kluczowe: nadciśnienie tętnicze, insulinooporność, polimorfizm Gly972Arg genu substratu insulinowego 1

Naciśnienie Tętnicze 2006, tom 10, nr 3, strony 174–179.

Piśmiennictwo

1. Grupa Robocza International Diabetes Federation — nowa definicja zespołu metabolicznego. *Medycyna Praktyczna* 2005; 5 (171): 45–55.
2. Ford E.S. Risks for all-cause mortality, cardiovascular disease, and diabetes associated with the metabolic syndrome: a summary of the evidence. *Diabetes Care* 2005; 28 (7): 1769–1778.
3. Zdrojewski T., Szpakowski P., Bandosz P. i wsp. Arterial hypertension in Poland in 2002. *J. Hum. Hypertens.* 2004; 18 (8): 557–562.
4. Reaven G.M. Insulin resistance/compensatory hyperinsulinemia, essential hypertension, and cardiovascular disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003; 88 (6): 2399–2403.
5. 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.
6. 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.
7. Krook A., O'Rahilly S. Mutant insulin receptors in syndromes of insulin resistance. *Baillieres Clin. Endocrinol. Metab.* 1996; 10 (1): 97–122.
8. Araki E., Lipes M.A., Patti M.E. i wsp. Alternative pathway of insulin signalling in mice with targeted disruption of the IRS-1 gene. *Nature* 1994; 372 (6502): 186–190.
9. Fantin V.R., Wang Q., Lienhard G.E., Keller S.R. Mice lacking insulin receptor substrate 4 exhibit mild defects in growth, reproduction, and glucose homeostasis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2000; 278 (1): E127–33.
10. Tamemoto H., Kadowaki T., Tobe K. i wsp. Insulin resistance and growth retardation in mice lacking insulin receptor substrate-1. *Nature* 1994; 372 (6502): 182–186.
11. Withers D.J., Gutierrez J.S., Towery H. i wsp. Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. *Nature* 1998; 391 (6670): 900–904.
12. 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.
13. 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.

14. 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.
15. Imai Y., Fusco A., Suzuki Y. i wsp. Variant sequences of insulin receptor substrate-1 in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1994; 79 (6): 1655–1658.
16. 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.
17. Zasady postępowania w nadciśnieniu tętniczym. Stanowisko Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego. *Nadciśnienie Tętnicze* 2003; 7 (supl. A).
18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. Sigal R.J., Doria A., Warram J.H., Krolewski A.S. Codon 972 polymorphism in the insulin receptor substrate-1 gene, obesity, and risk of noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1996; 81 (4): 1657–1659.
22. 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.
23. Chuang L.M., Lai C.S., Yeh J.L. i wsp. No association between the Gly971Arg variant of the insulin receptor substrate 1 gene and NIDDM in the Taiwanese population. *Diabetes Care* 1996; 19: 446–449.
24. Celi F.S., Silver K., Walston J. i wsp. Lack of IRS-1 codon 513 and 972 polymorphism in Pima Indians. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1995; 80 (9): 2827–2829.
25. Baroni M.G., D'Andrea M.P., Montali A. i wsp. A common mutation of the insulin receptor substrate-1 gene is a risk factor for coronary artery disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1999; 19 (12): 2975–2980.
26. Florez J.C., Sjögren M., Burt N. i wsp. Association testing in 9,000 people fails to confirm the association of the insulin receptor substrate-1 G972R polymorphism with type 2 diabetes. *Diabetes* 2004; 53 (12): 3313–3318.
27. Ito K., Katsuki A., Furuta M. i wsp. Insulin sensitivity is not affected by mutation of codon 972 of the human IRS-1 gene. *Horm. Res* 1999; 52 (5): 230–234.
28. Koch M., Rett K., Volk A. i wsp. Amino acid polymorphism Gly 972 Arg in IRS-1 is not associated to lower clamp-derived insulin sensitivity in young healthy first degree relatives of patients with type 2 diabetes. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 1999; 107 (5): 318–322.
29. Peticone 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.