

<sup>1</sup>Klinika Kardiologii, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

<sup>2</sup>Klinika Chorób Wewnętrznych i Geriatrii, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

<sup>3</sup>Zakład Biochemii Klinicznej, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

# Polimorfizm podjednostki $\beta 3$ białka G a ciśnienie tętnicze i struktura i funkcja naczyń krwionośnych

## G protein $\beta 3$ subunit gene polymorphism and arterial blood pressure, indices of arterial structure and function

### Summary

There is some evidence that GNB3 C825T may be associated with metabolic syndrome phenotypes including essential hypertension. We investigated whether blood pressure or indices of arterial structure and function are associated with GNB3 polymorphism in Polish population.

We studied 86 nuclear families — 142 parents (age  $50.3 \pm 5.0$  years) and 184 offspring (age  $24.0 \pm 4.7$  years) enrolled in the population-based study in Cracow. Each subject underwent the 24-hr ambulatory blood pressure monitoring (SpaceLabs 90207), carotid ultrasound and pulse wave velocity measurements. Genotypes were determined by allele-specific hybridization.

Genotype frequencies (42.3% for CC, 50.9% for CT and 6.8% for TT) did not deviate from Hardy-Weinberg equilibrium ( $p = 0.21$ ). Among parents but not among offspring 24-hour, day-time and night-time systolic blood pressures were 5–7 mm Hg higher in TT homozygotes than in C allele carriers ( $p = 0.04$ ). Similarly, in parents TT homozygotes compared to C-allele carriers had increased pulse wave velocity ( $11.9 \pm 2.2$  vs.  $10.4 \pm 1.5$  m/s). No differences in features influenced by genotype were found in the offspring. In our study we found that the influence of GNB3 C825T

polymorphism on blood pressure shows different pattern in the two generations. It is associated with higher systolic blood pressure and higher pulse wave velocity only in parent generation. This observation supports the thesis about recessive model of phenotypic effect of GNB3 polymorphism, which can be detected only in older age-generation group.

**key words:** hypertension, genetics, GNB3, arterial compliance

*Arterial Hypertension 2004, vol. 8, no 2, pages 119–131.*

### Wstęp

Czynniki genetyczne pełnią ważną rolę w patogenezie pierwotnego nadciśnienia tętniczego. W ciągu ostatnich kilku lat opublikowano wyniki wielu badań dotyczących powiązania różnych genów z ciśnieniem tętniczym. Wśród genów, których polimorfizm może się wiązać z rozwojem nadciśnienia tętniczego, obecnie zainteresowanie wzbudza gen podjednostki  $\beta 3$  białka G (GNB3) i opisany w jego obrębie polimorfizm C825T.

Białka G są integralnymi cząsteczkami błony cytoplazmatycznej działającymi jako przezłonowe wzmacniacze sygnałów biologicznych. Sprzęgają one receptory hormonów, amin biogennych, neurotransmiterów z efektorami działającymi wewnątrz

Adres do korespondencji: dr med. Agnieszka Olszanecka  
I Klinika Kardiologii Collegium Medicum UJ  
ul. Kopernika 17, 31–501 Kraków  
tel.: (012) 424–73–00, faks: (012) 421–37–32  
e-mail: aolszanecka@su.krakow.pl

 Copyright © 2004 Via Medica, ISSN 1428–5851

Praca była współfinansowana przez grant promotorski Komitetu Badań Naukowych nr 6P05B04820

komórki — z układem cykazy adenylowej, szlakiem metabolicznym trifosforanu inozytolu, diacyloglicerolu lub kanałami jonowymi potasowymi lub wapniowymi. Białka G są heterotrimerami — składają się z 3 podjednostek:  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ . Obecnie wyróżnia się szczegółowo definiowane klasy białek G, najogólniej dzielone na białka Gs (stymulujące) oraz Gi (hamujące) układy efektorowe komórki [1].

Na uwagę zasługuje fakt, że duża grupa czynników wazoaktywnych, a także czynników wzrostu oddziałuje na komórkę poprzez białka G. Mimo kluczowej roli białek G w funkcjonowaniu przezłonowych układów sygnalizacyjnych komórki, dopiero niedawno zwrócono uwagę na ich potencjalny udział w patogenezie nadciśnienia tętniczego [2]. Dowodów dostarczyły badania izolowanych limfoblastów i hodowle komórkowe fibroblastów osób z nadciśnieniem tętniczym. Niemal u połowy chorych na nadciśnienie pierwotne stwierdzano zwiększoną aktywność wymiennika sodowo-wodorowego (NHE, *sodium-hydrogen exchanger*). Przyczyną tego zjawiska jest zwiększenie aktywności systemu transdukcji związanego z białkami G wrażliwymi na toksynę krztuśca (Gi). Komórki takie cechują się znacznie zwiększoną reaktywnością na różne bodźce receptorowe — mediowaną za pośrednictwem białka Gi [3]. Analiza molekularna genu podjednostki  $\beta 3$  białka G (GNB3), zlokalizowanego w obrębie krótkiego ramienia chromosomu dwunastej pary (12p13), wykazała obecność polimorfizmu C825T w 10 eksonie tego genu [4]. Obecność allelu T wiąże się z wystąpieniem alternatywnej drogi składania mRNA (*alternative splicing*), w którym delecji ulegają nukleotydy 498 do 620 w obrębie eksonu 9, a w rezultacie z powstaniem cząsteczki białka G $\beta 3$ -s (*splice variant*) z ubytkiem 41 aminokwasów. Ekspresja białka G $\beta 3$ -s jest szczególnie nasiloną u pacjentów z allelem T i jej właśnie przypisuje się opisaną wcześniej zwiększoną reaktywność białka G pod wpływem różnorodnych bodźców receptorowych [5].

Postulowany udział polimorfizmu podjednostki  $\beta 3$  białka G w rozwoju nadciśnienia tętniczego może wynikać ze zwiększonej reaktywności mięśniówki gładkiej naczyń na czynniki wazokonstrykcyjne, stopniowej proliferacji błony środkowej naczyń i proliferacji kardiomiocytów prowadzącej do przerostu ścian naczyń krwionośnych i mięśnia sercowego [6].

Dane z badań klinicznych nad rolą polimorfizmu podjednostki  $\beta 3$  białka G w rozwoju nadciśnienia tętniczego są jeszcze nieliczne. Siffert i wsp. w swoich pionierskich pracach poświęconych polimorfizmowi podjednostki  $\beta 3$  białka G wykazali większą częstość allelu T u osób z nadciśnieniem tętniczym [5].

Celem badań było określenie częstości alleli polimorficznych (C825T) genu podjednostki  $\beta 3$  białka

G w populacji regionu krakowskiego, porównanie częstości poszczególnych alleli polimorficznych GNB3 u osób z prawidłowym ciśnieniem i u chorych z nadciśnieniem tętniczym, a także ocena — na podstawie badania obejmującego rodziny — związku polimorfizmu C825T genu podjednostki  $\beta 3$  białka G z wartością i dobowym profilem ciśnienia tętniczego oraz parametrami sżywności i przebudowy dużych naczyń tętnicznych.

## Materiał i metody

Badaniem objęto 86 dwupokoleniowych rodzin\* (rodziny nuklearne) o określonej strukturze (rodzice i co najmniej dwoje dzieci w wieku 18–60 lat), z czego 55 rodzin zrekrutowano z populacji ogólnej, kolejne 31 stanowiły rodziny pacjentów Poradni Nadciśnieniowej I Kliniki Kardiologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie.

Rodziny z populacji ogólnej wybrano spośród mieszkańców Miasta i Gminy Niepołomice, regionu rolniczo-przemysłowego, położonego w pobliżu Krakowa. Wybierano losowo pojedyncze osoby, następnie analizowano strukturę ich rodzin i spełnienie kryteriów włączenia do badania. Wylosowano 500 osób, spośród tej grupy kontakt był możliwy z 464 osobami. Odpowiednią dla badania strukturę rodziny stwierdzono u 101 osób. Zgodę na udział w badaniu wyraziło natomiast 55 rodzin (54,5%).

Badaniem objęto także rodziny stałych pacjentów Poradni Nadciśnieniowej I Kliniki Kardiologii *Collegium Medicum* Uniwersytetu Jagiellońskiego. Podstawowym kryterium włączenia była odpowiednia struktura rodziny. Do udziału w badaniu zaproszono kolejnych 33 pacjentów mieszkających w Krakowie wraz z rodzinami, zgodę na udział w programie uzyskano od 32 rodzin. Jedną z badanych rodzin wykluczono ze względu na rozpoznanie wtórnego charakteru nadciśnienia u jednego z dzieci. Do dalszych analiz włączono więc 31 rodzin.

Łącznie badana grupa liczyła 326 osób z 86 rodzin (141 osób z pokolenia rodziców, 185 z pokolenia dzieci).

U wszystkich przeprowadzono dwie wizyty domowe w odstępie 1–2 tygodni. Wszyscy uczestnicy badania wyrazili pisemną zgodę na uczestnictwo w programie oraz odrębną zgodę na udział w badaniu genetycznym. Szczegółowe badanie podmiotowe (na podstawie wystandaryzowanego kwestionariusza) oraz badanie przedmiotowe, jak również pobranie krwi wykonano podczas trzeciej wizyty — w gabinecie lekarskim. Podczas tej wizyty zakładano także aparat do 24-godzinnej rejestracji ciśnienia tętniczego. Czwarta wizyta — w Ambulatorium I Kliniki

Kardiologii — obejmowała badania dodatkowe: badanie echokardiograficzne, badanie podatności tętnic oraz ultrasonograficzną ocenę tętnic szyjnych.

U wszystkich osób na podstawie badania przedmiotowego oraz wywiadu lekarskiego i przeprowadzonych analiz wykluczono wtórny charakter nadciśnienia tętniczego.

Protokół badania zatwierdziła Komisja Bioetyczna Uniwersytetu Jagiellońskiego (decyzja nr KBET/24/B/2001 z dnia 22 lutego 2001 r.).

### Pomiary ciśnienia tętniczego

Pomiarów ciśnienia tętniczego dokonywano za pomocą sfigmomanometru rtęciowego, zgodnie z wytycznymi Europejskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego i Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (ESH-ESC 2003) [7]. Ciśnienie tętnicze zmierzono w trakcie pierwszej wizyty na obu ramionach, następnie wszystkich pomiarów dokonywano na ramieniu, na którym stwierdzono wyjściowo wyższe ciśnienie tętnicze, a w wypadku braku różnic — na ramieniu niedominującym.

Standardowe pomiary ciśnienia wykonywano podczas 3 oddzielnych wizyt, 5-krotnie w czasie każdej wizyty, w odstępach 2-minutowych.

Nadciśnienie tętnicze rozpoznawano na podstawie wywiadu lekarskiego i pomiarów ciśnienia przy użyciu sfigmomanometru rtęciowego, jeżeli średnia tradycyjnych pomiarów ciśnienia z dwóch oddzielnych wizyt przekraczała wartości prawidłowe (dla ciśnienia skurczowego [SBP, *systolic blood pressure*]: wartości  $\geq 140$  mm Hg, dla rozkurczowego [DBP, *diastolic blood pressure*]  $\geq 90$  mm Hg) lub jeśli badana osoba przyjmowała preparaty przeciwnadciśnieniowe.

### 24-godzinne automatyczne monitorowanie ciśnienia tętniczego

W celu dokładnej oceny ciśnienia tętniczego wykorzystano metodę całodobowej automatycznej rejestracji ciśnienia przy użyciu aparatu SpaceLabs 90207. Pomiary ciśnienia i tętna wykonywano co 15 minut w ciągu dnia (6.00–22.00) i co 30 minut w nocy (22.00–6.00). Za fazę czuwania przyjęto okres od 8.00 do 22.00, natomiast za fazę snu przedział godzin 0.00–6.00. Na podstawie uzyskanych zapisów obliczano średnie wartości SBP i DBP z całej doby oraz oddzielnie z okresu snu i czuwania. Za miarę zmienności ciśnienia tętniczego przyjęto odchylenie standardowe wartości ciśnienia w poszczególnych przedziałach czasowych.

### Badanie ultrasonograficzne tętnic szyjnych

Nasilenie procesu miażdżycy oceniono w ultrasonograficznym badaniu tętnic szyjnych z oceną grubo-

ści kompleksu błony środkowej i wewnętrznej tętnic szyjnych wspólnych. Badanie wykonano przy użyciu aparatu Hewlett Packard Sonos 2000, z głowicą sektorową 7,5 MHz. Pomiarów grubości kompleksu błony środkowej i wewnętrznej (IMT, *intima-media thickness*) dokonywano 3-krotnie, w tętnicy szyjnej wspólnej, na ścianie bliższej i dalszej, w odległości 2 cm od podziału na tętnicę szyjną wewnętrzną i zewnętrzną. Wynik wyrażano jako średnią z pomiaru grubości kompleksu błony środkowej i wewnętrznej na ścianie bliższej i dalszej prawej i lewej tętnicy szyjnej wspólnej [8].

### Badanie podatności naczyń

Ocenę podatności ściany dużych naczyń tętniczych przeprowadzono, wykorzystując pomiar centralnej szybkości fali tętna (PWV, *pulse wave velocity*). Badanie wykonano za pomocą automatycznego rejestratora komputerowego i programu do analizy wyników Complior® (Complior, Colson, Garges les Gonesse, Francja). Czujniki (*Pressure sensitive transducers* TY-306-Fukuda [Fukuda, Tokyo, Japonia]) umieszczano nad prawą tętnicą szyjną i prawą tętnicą udową. Centralną szybkość fali tętna obliczano jako iloraz odległości między czujnikami i czasu między szczytem fali tętna rejestrowanej nad tętnicą szyjną i nad tętnicą udową. Do wyznaczenia prędkości fali tętna uśredniono zapis z co najmniej 25 poprawnych pojedynczych pomiarów.

### Badania laboratoryjne

U wszystkich badanych wykonano następujące badania laboratoryjne: morfologię krwi, lipidogram, ocenę glikemii na czczo, stężenia elektrolitów (sód, potas), kreatyniny oraz badanie ogólne moczu metodą paskową.

U badanych wykonano także oznaczenia grupy krwi w układzie AB0 i Rh oraz sprawdzono zgodność genotypów podjednostki  $\beta 3$  białka G w obrębie rodzin (rodzice–dziecko, przy założeniu dziedziczenia mendlowskiego) w celu ewentualnego wykluczenia z analizy dzieci wychowywanych przez osoby niebędące ich rodzicami biologicznymi. Żadnej z badanych rodzin nie trzeba było wyłączyć z badanej populacji na podstawie niezgodności grup krwi i/lub genotypów badanego polimorfizmu.

### Badania genetyczne — oznaczenia polimorfizmu podjednostki $\beta 3$ białka G

Badania genetyczne wykonano w Zakładzie Biochemii Klinicznej Katedry Biochemii Klinicznej i Diagnostyki CMUJ. Genomowy DNA wyizolowano z krwi obwodowej, pobranej na wersenian dwusodowy (EDTA), za pomocą zestawu firmy QIAGEN (QIAamp DNA Blood Mini Kit). W łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR, *polymerase chain reaction*) powieli-

no fragmenty genu GNB3 zawierające zmutowane miejsca. Detekcja mutacji C825T genu podjednostki  $\beta 3$  białka G była możliwa dzięki zastosowaniu metody polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP, *restriction fragment length polymorphism*) przy użyciu enzymu restrykcyjnego BseDI (*Fermentas*). Produkty trawienia rozłożono w 2,5-procentowym żelu agarozowym z bromkiem etydyny. Produkty reakcji zostały uwidocznione w świetle UV. Produkty niestrawione enzymem restrykcyjnym (genotyp TT — homozygota zmutowana) odpowiadały pojedynczemu prążkowi o wielkości 268 bp, efektem całkowitego strawienia (genotyp CC — homozygota typu dzikiego) był podwójny prążek o wielkości 116 bp i 152 bp [5].

### Analiza statystyczna

W celu opracowania wyników pracy posłużono się pakietem statystycznym programu SAS wersja 6.12 (SAS Institute, Cary, North California, Stany Zjednoczone). Wartości średnie między dwoma niezależnymi grupami porównano za pomocą testu *t*-Studenta, natomiast proporcje między grupami porównano za pomocą testu  $\chi^2$ . Zgodność obserwowanego rozkładu częstości genotypów z rozkładem przewidywanym według prawa Hardy'ego-Weinberga potwierdzono przy użyciu testu  $\chi^2$ . Wpływ czynników genetycznych na wybrane parametry układu krążenia oceniono z zastosowaniem modelu regresji wieloczynnikowej, uwzględniając zdefiniowane w modelu regresji krokowej zmienne powiązane. Ze względu na strukturę badanej populacji analizę asocjacji zmiennych z czynnikami genetycznymi przeprowadzono dla każdej grupy pokoleniowej: osobno dla pokolenia rodziców i dla ich potomków. Porównano wybrane parametry opisujące strukturę i funkcję układu krążenia (fenotypy) w zależności od genotypu polimorfizmu C825T GNB3 z wykorzystaniem analizy wariancji. Następnie uwzględniono w modelu regresji wieloczynnikowej zmienne powiązane, wyznaczając dla 3 grup genotypowych wartości średnie wystandaryzowane oraz standardowy błąd pomiarów.

Ponieważ w pokoleniu potomków znajdowały się osoby ze sobą spokrewnione (pary rodzeństwa), w kolejnym modelu regresji wieloczynnikowej uwzględniono współczynniki korelacji zmiennych fenotypowych pomiędzy rodzeństwem (PROC GENMOD w pakiecie statystycznym SAS) [9].

## Wyniki

Charakterystykę kliniczną badanej populacji przedstawiono w tabeli I. Wiek badanych rodziców (pokolenie I) wynosił  $50,3 \pm 5,0$  lat, natomiast potomków (pokolenie II)  $24,0 \pm 4,7$  roku.

W pokoleniu rodziców obserwowano istotnie wyższe wartości ciśnienia tętniczego niż w pokoleniu potomków, zarówno w pomiarach tradycyjnych za pomocą sfigmomanometru rtęciowego (SBP  $135,8 \pm 22,1$  mm Hg *vs.*  $119,7 \pm 13,3$  mm Hg, DBP  $85,8 \pm 10,3$  mm Hg *vs.*  $73,4 \pm 8,9$  mm Hg,  $p < 0,001$ ), jak i w 24-godzinnej rejestracji ciśnienia (24-godzinne SBP  $124,1 \pm 11,8$  mm Hg *vs.*  $117,2 \pm 8,3$  mm Hg, 24-godzinne DBP  $76,4 \pm 8,0$  mm Hg *vs.*  $67,7 \pm 6,3$  mm Hg,  $p < 0,001$ ).

Częstość nadciśnienia tętniczego była także istotnie większa w pokoleniu rodziców niż w pokoleniu potomków (66,9% *vs.* 19,0%,  $p < 0,001$ ). W grupie osób z nadciśnieniem tętniczym leki hipotensyjne stosowało 58,5% osób z pokolenia starszego i 45,8% z pokolenia młodszego. Skuteczną kontrolę ciśnienia stwierdzono jednak zaledwie u niespełna 1/3 pacjentów (28% w pokoleniu I i 29,2% w pokoleniu II).

W obu pokoleniach mężczyźni charakteryzowali się istotnie wyższym wskaźnikiem talia-biodra, mniejszą grubością fałdu skórniego przy podobnym do kobiet wskaźniku masy ciała (tab. I).

Wartości ciśnienia tętniczego nie różniły się w zależności od płci w pokoleniu rodziców. W pokoleniu potomków u mężczyzn częściej obserwowano nadciśnienie oraz wyższe wartości ciśnienia tętniczego.

Rozkład częstości genotypów polimorfizmu C825T podjednostki  $\beta 3$  białka G w badanej populacji (tab. II) był zgodny z przewidywanym według prawa Hardy'ego-Weinberga ( $p = 0,21$ ).

Grupa pacjentów z nadciśnieniem tętniczym nie różniła się w istotny sposób od grupy osób z prawidłowymi wartościami ciśnienia tętniczego pod względem częstości poszczególnych genotypów badanego polimorfizmu ( $p = 0,89$ ). Nie stwierdzono różnic w rozkładzie genotypów polimorfizmu C825T GNB3 w zależności od płci ani grupy pokoleniowej (tab. II).

Podobną częstość mutacji 825T GNB3 obserwowano w grupie osób zrekrutowanych do badania przez poradnię nadciśnieniową i wśród osób wybranych losowo z populacji ogólnej ( $p = 0,9$ ).

W analizie regresji logistycznej obliczono ryzyko względne nadciśnienia tętniczego związane z obecnością mutacji 825T GNB3. Ryzyko to wzrasta, wraz z liczbą zmutowanych alleli T, do wartości 1,29 (95-procentowy przedział ufności [CI, *confidence interval*] 0,24–2,34,  $p = 0,33$ ) u osób homozygotycznych TT, chociaż wartość ta nie osiąga istotności statystycznej.

### Ciśnienie tętnicze

W tradycyjnych pomiarach ciśnienia nie stwierdzono istotnych różnic w wysokości ciśnienia tętniczego między poszczególnymi genotypami polimorfizmu C825T GNB3 w pokoleniu potomków.

**Tabela I.** Charakterystyka kliniczna badanej populacji z uwzględnieniem podziału na pokolenia oraz ze względu na płeć  
**Table I.** Clinical characteristics of the examined population (age generation and gender)

	Pokolenie I		Pokolenie II	
	Ojcowie n = 58	Matki n = 84	Synowie n = 91	Córki n = 93
<b>Charakterystyka kliniczna</b>				
Wiek (lata)	50,9 (4,8)	49,9 (5,2)	23,2 (4,4)	24,8 (4,9)*
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	28,5 (3,7)	28,9 (5,4)	23,2 (3,1)	22,6 (3,4)
Wskaźnik talia-biodra	0,96 (0,06)	0,86 (0,06)***	0,84 (0,05)	0,76 (0,05)***
Grubość fałdu skórniego [mm]	17,4 (7,2)	26,9 (8,9)***	12,3 (6,3)	16,8 (6,0)***
SBP [mm Hg] <sup>†</sup>	136,6 (16,6)	135,2 (19,0)	125,7 (12,3)	113,8 (11,6)***
DBP [mm Hg] <sup>†</sup>	86,3 (9,1)	85,4 (9,8)	76,4 (10,6)	71,5 (7,9)***
Nadciśnienie tętnicze (n)	40 (69%)	55 (65,5%)	27 (29%)	8 (8,6%)***
Nadciśnienie tętnicze leczone (n)	17 (29,3%)	37 (44,1%)	7 (8%)	2 (2,2%)
Cukrzyca (n)	9 (15,5%)	5 (6%)	1 (1%)	0
Otyłość (n)	21 (36,2%)	29 (34,5%)	2 (2,2%)	2 (2%)
Nadwaga (n)	25 (43,1%)	36 (42,9%)	23 (25,3%)	15 (16,1%)
Palenie tytoniu (n)	20 (34,5%)	25 (29,8%)	29 (31,9%)	15 (16,1%)**
Regularne spożycie alkoholu (n) <sup>#</sup>	22 (37,9%)	4 (4,8%)***	30 (33%)	4 (4,3%)***

W tabeli przedstawiono wartości średnie (SD, *standard deviation*) lub liczebność grup (%).

Istotne statystycznie różnice między kobietami i mężczyznami w obrębie każdego pokolenia: \*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001

<sup>†</sup>Średnia z 5 pomiarów dokonanych podczas 2 wizyt domowych

<sup>#</sup>Spożycie alkoholu > 5 g etanolu/d.

**Tabela II.** Rozkład poszczególnych genotypów polimorfizmu C825T genu podjednostki  $\beta 3$  białka G w badanej populacji  
**Table II.** Genotype and allele distribution of the C825T polymorphism in the examined population

	Genotyp			Allele	
	CC	CT	TT	C	T
Ogółem	138 (42,3%)	166 (50,9%)	22 (6,8%)	442 (67,8%)	210 (32,2%)
Osoby z nadciśnieniem tętniczym	53 (40,8%)	67 (51,5%)	10 (7,7%)	173 (66,5%)	87 (33,5%)
Osoby z prawidłowym ciśnieniem tętniczym	85 (43,4%)	99 (50,5%)	12 (6,1%)	269 (68,6%)	123 (31,4%)
Mężczyźni	65 (43,6%)	75 (50,3%)	9 (6,1%)	205 (68,8%)	93 (31,2%)
Kobiety	73 (41,2%)	91 (51,4%)	13 (7,4%)	237 (66,9%)	117 (33,1%)
Pokolenie I	62 (43,7%)	70 (49,3%)	10 (7,0%)	194 (68,3%)	90 (31,7%)
Pokolenie II	76 (41,3%)	96 (52,2%)	12 (6,5%)	248 (67,4%)	120 (32,6%)
Poradnia nadciśnienia tętniczego	51 (42,5%)	61 (50,8%)	8 (6,7%)	163 (67,9%)	77 (32,1%)
Niepołomice	87 (42,2%)	105 (51,0%)	14 (6,8%)	279 (67,7%)	133 (32,3%)

W pokoleniu rodziców w pomiarach wykonanych w gabinecie lekarskim stwierdzono istotnie wyższe wartości DBP u osobników homozygotycznych TT ( $p = 0,04$ ) oraz tendencję do występowania wyższych wartości SBP w pomiarach domowych (wyniki przedstawiono na diagramie — ryc. 1).

### 24-godzinne automatyczne monitorowanie ciśnienia tętniczego

W 24-godzinnym monitorowaniu ciśnienia tętniczego ujawniono różnice wartości ciśnienia w zależności od genotypu badanego polimorfizmu w pokoleniu rodziców (wartości testu ANOVA dla SBP z całej doby,

okresu dnia oraz nocy pozostawały dla tych zmiennych na poziomie istotności  $p < 0,15$  dla 3 genotypów). Ponieważ konsekwentnie stwierdzano wyższe wartości ciśnienia wśród osób homozygotycznych TT, w następnym etapie analizy porównywano wyniki osób homozygotycznych TT z wynikami nosicieli allelu C, zakładając recesywny model efektu fenotypowego polimorfizmu C825T GNB3. W ten sposób potwierdzono znaczącość różnic: wyższe wartości SBP z 24 godzin rejestracji, okresu dnia oraz nocy u homozygot TT w porównaniu z genotypami CC + CT ( $p < 0,04$  dla wszystkich zmiennych, wyniki przedstawiono na diagramach — ryc. 2). Różnice wartości DBP między osobnikami homozygotycznymi TT a nosicielami allelu C osiągnęły znaczącość dla wartości z całej doby ( $p = 0,03$ ), pozostawały natomiast na granicy istotności statystycznej dla okresu dnia ( $p = 0,07$ ) oraz nocy ( $p = 0,08$ ).

W profilu dobowym SBP w grupie rodziców istotnie wyższe wartości ciśnienia stwierdzono u homozy-

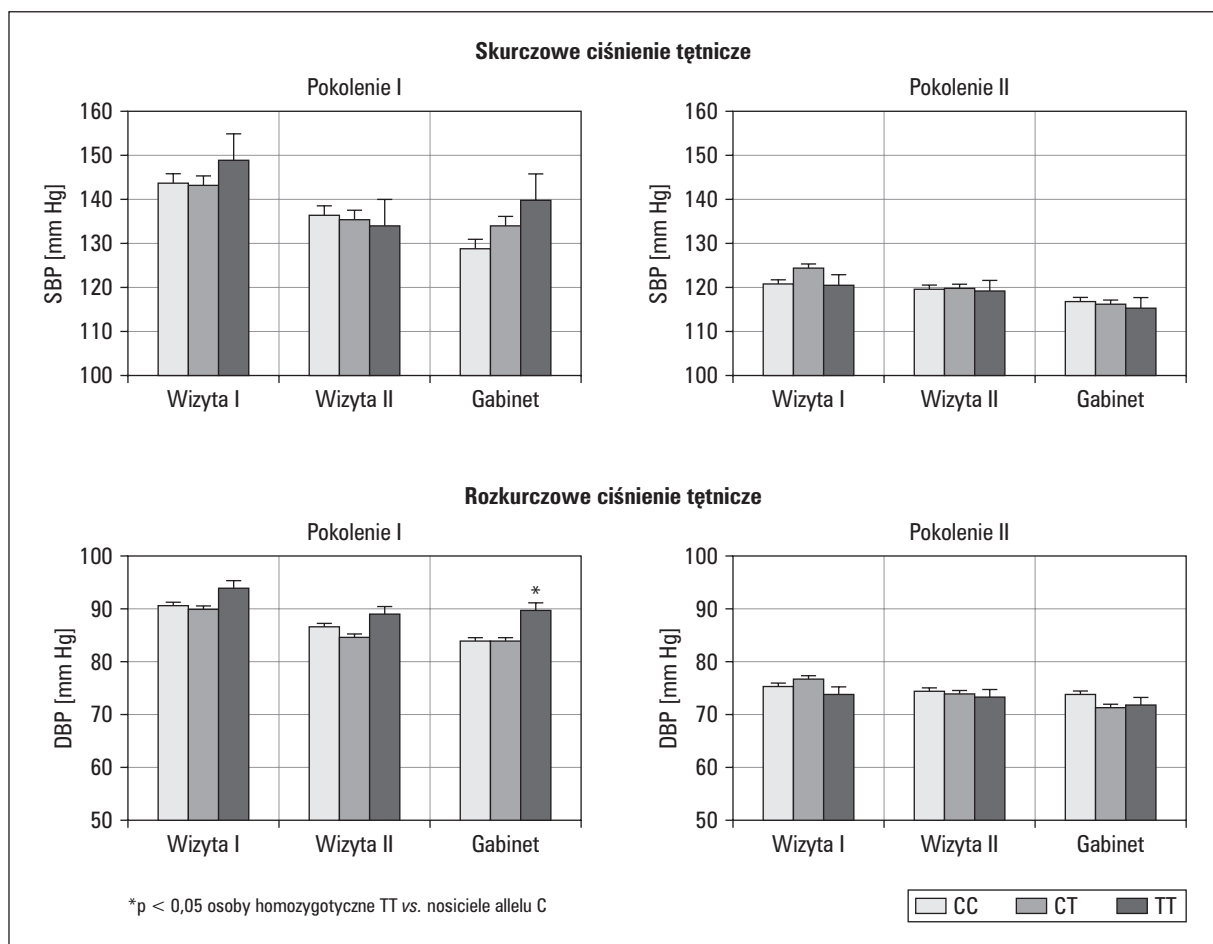
got TT w przedziałach czasowych: 8.00–10.00, 14.00–22.00 oraz 1.00–3.00. Rozkurczowe ciśnienie tętnicze było istotnie wyższe u osób homozygotycznych TT w godzinach: 8.00–10.00, 14.00–16.00 i 20.00–21.00.

W pokoleniu potomków, podobnie jak w przypadku standardowych pomiarów ciśnienia tętniczego, wyniki uzyskane w 24-godzinnej rejestracji ciśnienia nie różniły się istotnie pomiędzy genotypami polimorfizmu GNB3. Nie stwierdzono także różnic w profilu dobowym ciśnienia między genotypami GNB3 w pokoleniu II (ryc. 3).

### Parametry struktury i funkcji naczyń tętniczych

Nie stwierdzono istotnych różnic grubości kompleksu błony środkowej i wewnętrznej tętnicy szyjnej wspólnej między genotypami badanego polimorfizmu (ryc. 4).

W analizie prędkości fali tętna obserwowano różnice między genotypami GNB3 tylko w pokoleniu



**Rycina 1.** Ciśnienie tętnicze — wyniki pomiarów tradycyjnych, w zależności od genotypu polimorfizmu C825T GNB3. Na rycinie przedstawiono średnią z 5 kolejnych pomiarów z wizyt domowych oraz wizyty w gabinecie lekarskim w obydwu grupach pokoleniowych (wartości wystandaryzowane do płci, wieku, stosowania leczenia hipotensyjnego; słupki przedstawiają wartości średnie oraz SD)

**Figure 1.** Office blood pressure and C825T GNB3 polymorphism. Mean of 5 consecutive measurements (adjusted for age, sex and use of antihypertensive medication, mean and SD)

rodziców: istotnie wyższe wartości prędkości fali tętna u homozygot TT niż u nosicieli allelu C (ryc. 5). W grupie osób młodszych nie stwierdzono zależności PWV od genotypu C825T GNB3.

## Dyskusja

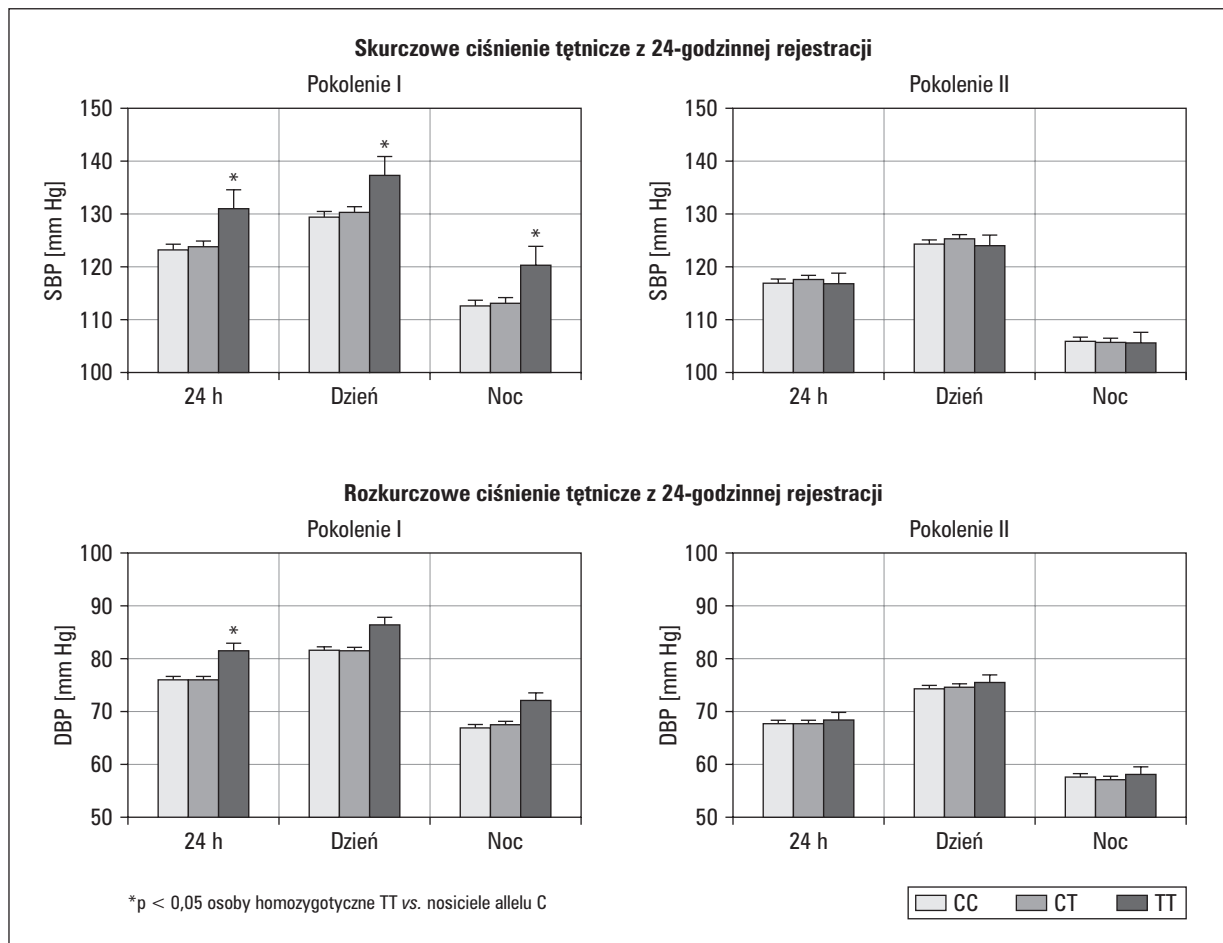
Częstość poszczególnych alleli polimorfizmu C825T genu podjednostki  $\beta 3$  białka G w badanej populacji wynosiła 67,8% dla allelu typu dzikiego oraz 32,2% dla zmutowanego allelu 825T.

W zbiorczym opracowaniu Sifferta i wsp. [10], stwierdzono istotne różnice w częstości mutacji 825T GNB3 w zależności od badanej grupy etnicznej i rasowej. Na podstawie wyników genotypowania 5254 osób z 55 grup etnicznych stwierdzono największą częstość allelu 825T wśród osób rasy czarnej (79–88%), średnią dla osób rasy żółtej (40–50%)

i najmniejszą wśród osób rasy białej (24–35%) [10]. W Europie najmniejszą częstość allelu T (21–25%) obserwowano w Rosji [10, 11] i Finlandii [10, 12], natomiast w populacji Niemiec [5, 13–15], Francji [16], Irlandii [16], Hiszpanii [17, 18] i Włoch [19] allel T występował z częstością 30–34%.

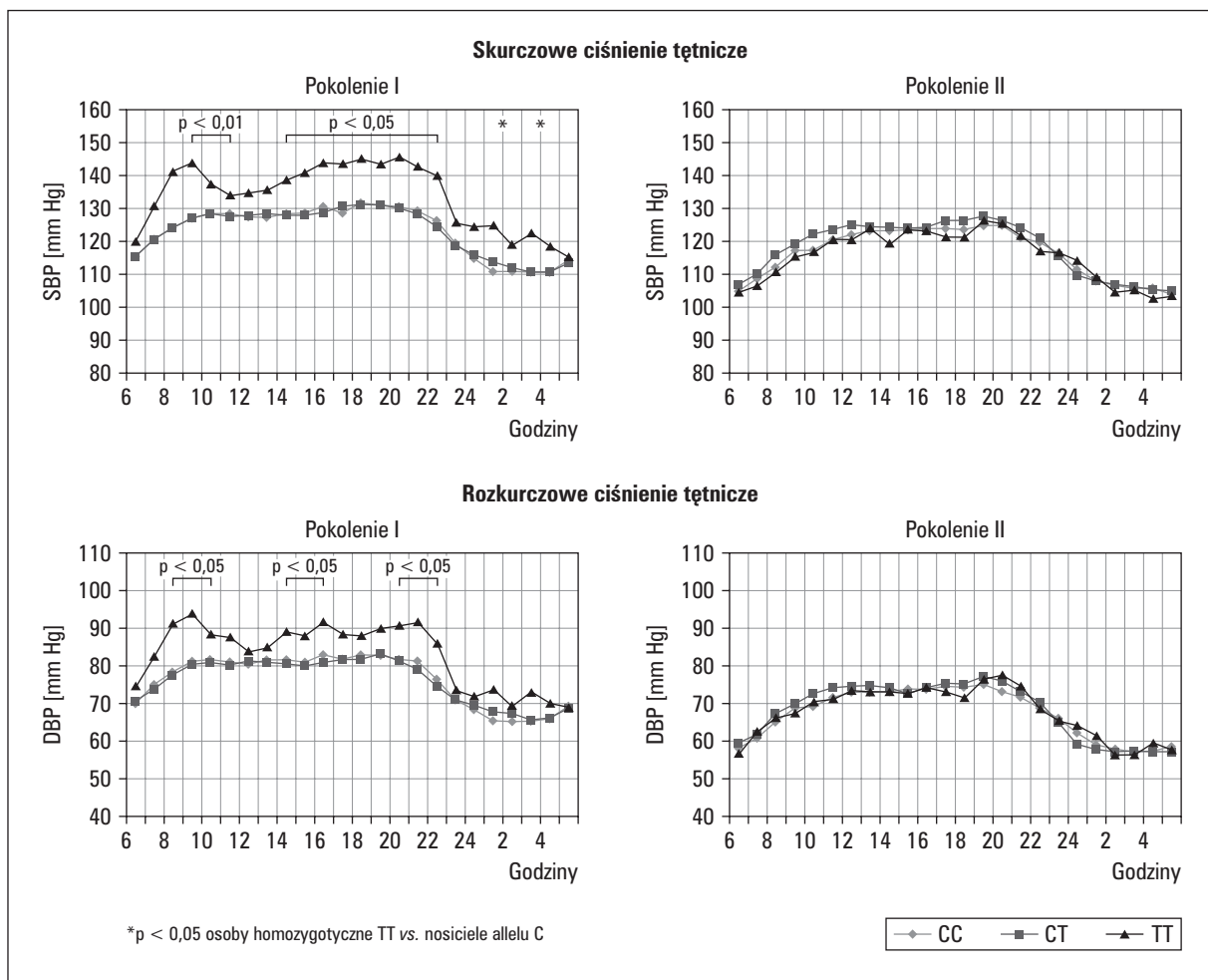
Częstość zmutowanego allelu 825T GNB3 w badanej populacji regionu krakowskiego była więc bardzo zbliżona do wyników uzyskanych w innych populacjach europejskich.

Dane z niniejszej pracy trudno jednak odnieść do wyników dystrybucji genotypów C825T GNB3 w innych regionach geograficznych Polski. Dotychczas ukazały się bowiem tylko dwie publikacje dotyczące polimorfizmu genu podjednostki  $\beta 3$  białka G, pochodzące z ośrodków polskich, obie jednak dotyczyły związku polimorfizmu GNB3 z cukrzycą typu 2 i opierały się na wynikach badań tej wybranej grupy chorych [20, 21]. W pracy Dzidy i wsp. [20] z ośro-

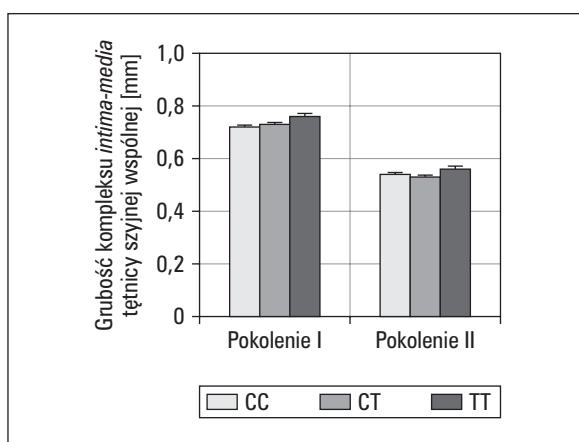


**Rycina 2.** Ciśnienie tętnicze — wyniki 24-godzinnej rejestracji ciśnienia, w zależności od genotypu polimorfizmu C825T GNB3 (wartości wystandaryzowane do płci, wieku, stosowania leków przeciwnadciśnieniowych; słupki przedstawiają wartości średnie oraz SD)

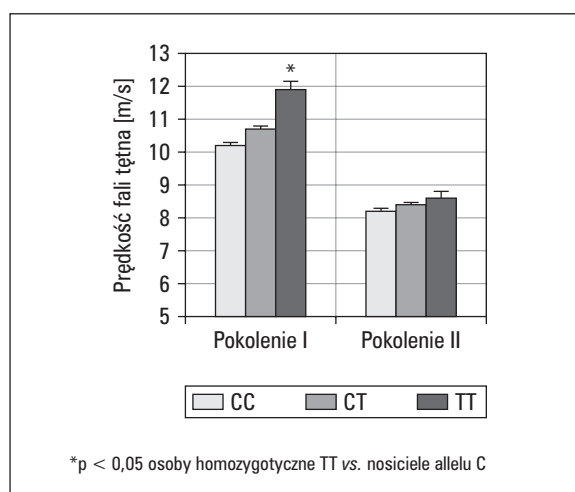
**Figure 2.** 24 hour blood pressure and C825T GNB3 polymorphism (adjusted for age, sex and use of antihypertensive medication, mean and SD)



**Rycina 3.** Profil dobowy ciśnienia tętniczego w zależności od genotypu polimorfizmu C825T GNB3  
**Figure 3.** Blood pressure profile related to C825T GNB3 polymorphism



**Rycina 4.** Grubość kompleksu *intima-media* tętnicy szyjnej wspólnej w obu pokoleniach w zależności od genotypu polimorfizmu C825T GNB3 (wartości wystandaryzowane do płci, wieku, SBP, stosowania leków hipotensyjnych i palenia tytoniu; słupki przedstawiają wartości średnie oraz SE)  
**Figure 4.** IMT of common carotid artery in both generations in relation to C825T GNB3 polymorphism (standardised for sex, age, treatment and smoking; mean and SD)



**Rycina 5.** Prędkość fali tętna w obu pokoleniach w zależności od genotypu polimorfizmu C825T GNB3 (wartości wystandaryzowane do płci, wieku, BMI, stosowania leków hipotensyjnych i palenia tytoniu; słupki przedstawiają wartości średnie oraz SD)  
**Figure 5.** Pulse wave velocity in both generations in relation to C825T GNB3 polymorphism (standardised for sex, age, treatment and smoking; mean and SD)



ka lubelskiego częstość allelu 825T GNB3, obliczona na podstawie genotypów 172 chorych na cukrzycę typu 2, wynosiła 35% i była istotnie większa niż w grupie osób zdrowych (28%). W drugiej pracy [21] oceniano związek zmienności allelicznej GNB3 z rozwojem powikłań cukrzycy typu 2. Częstość allelu 825T w tej grupie chorych z regionu Górnego Śląska wynosiła 32,2%.

W przeprowadzonym badaniu nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładzie genotypów wśród pacjentów z nadciśnieniem tętniczym i u osób z prawidłowymi wartościami ciśnienia. Podobnie, odsetek osób z nadciśnieniem nie różnił się znamienne między poszczególnymi genotypami polimorfizmu C825T genu podjednostki  $\beta 3$  białka G. Ryzyko rozwoju nadciśnienia tętniczego w badanej grupie rosło z obecnością zmutowanego allelu T, ale nie osiągnęło poziomu istotności statystycznej.

Związek polimorfizmu podjednostki  $\beta 3$  białka G z nadciśnieniem tętniczym wykazano po raz pierwszy w populacji niemieckiej, w której u nosicieli zmutowanego allelu 825T stwierdzono względne ryzyko nadciśnienia tętniczego na poziomie 1,44 (95% CI 1,09–1,88,  $p = 0,02$ ) [5].

W późniejszych publikacjach wyniki analiz asocjacji polimorfizmu genu podjednostki  $\beta 3$  białka G z nadciśnieniem tętniczym były jednak niejednoznaczne.

Obok prac potwierdzających silny związek mutacji 825T GNB3 z rozwojem nadciśnienia tętniczego pojawiły się doniesienia negujące taką zależność.

Beige i wsp. [22] objęli badaniem genetycznym 479 pacjentów z utrwalonym nadciśnieniem tętniczym i 1000 osób z populacji ogólnej Niemiec. Autorzy stwierdzili istotny wzrost ryzyka nadciśnienia u nosicieli allelu T GNB3 (OR, *odds ratio* 1,5,  $p = 0,01$ ), nie obserwowali jednak zależności wysokości ciśnienia od genotypu badanego polimorfizmu.

W grupie ponad 2000 uczestników programu epidemiologicznego MONICA również potwierdzono związek nadciśnienia tętniczego z genotypem C825T GNB3 [23]. Częstość nadciśnienia tętniczego była istotnie większa w grupie osób homozygotycznych TT niż wśród homozygot CC (41,8% *vs.* 32,5%,  $p = 0,02$ ). Zwraca także uwagę fakt, że w grupie osób homozygotycznych TT stwierdzono najwyższy odsetek pacjentów z ciężkim nadciśnieniem — zdefiniowanym przez autorów jako DBP > 105 mm Hg (TT — 14,4% *vs.* CT — 7,3% *vs.* CC — 4,9%,  $p = 0,002$ ).

Ryzyko względne nadciśnienia związane z homozygotycznością TT polimorfizmu C825T GNB3 oszacowano na 1,51 i było ono istotnie wyższe niż u nosicieli allelu C ( $p < 0,05$ ).

W przeciwieństwie do cytowanych wyżej badań, Brand i wsp. w swojej analizie [16], opartej na oce-

nie genotypów uczestników badania PEGASE i *Etude de Cas — Temoins de l'Infarctus du Myocarde* (ECTIM) we Francji i Irlandii, nie stwierdzili różnic w częstości mutacji 825T genu podjednostki  $\beta 3$  białka G w grupie chorych na nadciśnienie w porównaniu z osobami z prawidłowymi wartościami ciśnienia.

Nie obserwowano także związku polimorfizmu GNB3 z nadciśnieniem tętniczym w populacji fińskiej, w grupie 903 osób poddanych 4-letniej obserwacji [12].

Ponieważ na podstawie wcześniej opublikowanych badań można było przypuszczać, że polimorfizm GNB3 pełni określoną rolę jedynie u chorych z ciężkim nadciśnieniem, podjęto próbę oceny genotypów podjednostki  $\beta 3$  białka G wśród osób hospitalizowanych z powodu kryzy nadciśnieniowej [24]. Nie potwierdzono jednak różnic w rozkładzie genotypów między badaną grupą chorych na nadciśnienie tętnicze a dobraną według płci i wieku jednakowo liczną grupą osób z ciśnieniem prawidłowym.

Wobec świadomości wielogenowego charakteru nadciśnienia, w prowadzonych badaniach należy poszukiwać nie tylko związku danego czynnika genetycznego z utrwalonym nadciśnieniem, ale także, traktując ciśnienie tętnicze jaką zmienną ciągłą, ważne jest poszukiwanie związków z wartościami ciśnienia.

W badanej populacji nie stwierdzono istotnych różnic między genotypami polimorfizmu GNB3 w tradycyjnych pomiarach ciśnienia za pomocą sfigmomanometru rtęciowego. Różnice zależne od genotypu ujawniono dopiero, oceniając parametry 24-godzinnej rejestracji ciśnienia tętniczego. Wyniki tej analizy wskazują na odmienną rolę polimorfizmu podjednostki  $\beta 3$  białka G w regulacji ciśnienia tętniczego w poddanych analizie 2 grupach pokoleniowych. Wpływ polimorfizmu C825T na wartości dobowego ciśnienia tętniczego był tu zależny od wieku i zauważalny tylko w starszej grupie pokoleniowej. U osób homozygotycznych pod względem zmutowanego allelu 825T w pokoleniu rodziców obserwowano wyższe wartości SBP i DBP w 24-godzinnym monitorowaniu ciśnienia tętniczego.

Porównując wyniki własnego badania z innymi dotychczas opublikowanymi, autorzy napotykają trudność polegającą na zastosowaniu odmiennej metodyki. Wyniki prac oceniających związek polimorfizmu C825T GNB3 z ciśnieniem tętniczym opierają się najczęściej na tradycyjnych pomiarach ciśnienia. Metoda 24-godzinnej rejestracji, mimo że umożliwia dokładniejszą ocenę wartości ciśnienia oraz ocenę jego rytmu dobowego i zmienności, jest znacznie bardziej kosztowna i stosunkowo rzadko stosuje się ją w badaniach dużych grup populacyjnych.

Ocenę dobowych wartości ciśnienia w zależności od genotypu C825T GNB3 przeprowadzono w Ja-

ponii w grupie 352 osób z populacji ogólnej — uczestników *Ohasama Study* [25]. Nie stwierdzono różnic między genotypami badanego polimorfizmu a wartościami dobowego SBP ani DBP. Autorzy nie analizowali innych parametrów 24-godzinnych rejestracji, jak rytm dobowy czy zmienność ciśnienia. Należy jednak podkreślić, że porównanie wyników badań asocjacji tych samych polimorfizmów z wartościami ciśnienia tętniczego w różnych grupach rasowych należy traktować z dużą ostrożnością. Zasadniczą różnicą między badaniem własnym a cytowanym japońskim jest bowiem częstość zmutowanego allelu 825T w badanych populacjach: istotnie większa dla rasy żółtej (51,5% w *Ohasama Study* vs. 32,2% w badaniu przeprowadzonym przez autorów niniejszego artykułu).

W populacjach europejskich metodę 24-godzinnej rejestracji ciśnienia stosowano w cytowanej już wyżej pracy Beige'a i wsp. [22]. Monitorowanie ciśnienia przeprowadzono w grupie 479 pacjentów z nadciśnieniem, odstąpiono natomiast od tej metody oceny ciśnienia tętniczego w grupie osób z ciśnieniem prawidłowym. Badanie 24-godzinnego monitorowania ciśnienia posłużyło tu wyłącznie do weryfikacji rozpoznania nadciśnienia tętniczego i wykluczenia z grupy badanej osób z nadciśnieniem białego fartucha. Pomimo potwierdzenia asocjacji zmienności allelicznej GNB 3 z nadciśnieniem tętniczym, autorzy tej publikacji nie wykazali różnic dobowych wartości ciśnienia między genotypami wśród osób z podwyższonymi wartościami ciśnienia.

Warto także przytoczyć wyniki prospektywnej pracy Sartorio i wsp. [26], w której poddano średnio 4,7-letniej obserwacji homogeną grupę 461 młodych, nieleczonych dotychczas mężczyzn z nadciśnieniem tętniczym 1. stopnia — uczestników włoskiego badania HARVEST. Na początku badania i po jego zakończeniu nie stwierdzono różnic w wartościach ciśnienia tętniczego (z pomiarów tradycyjnych oraz 24-godzinnego monitorowania ciśnienia) między poszczególnymi genotypami GNB3. Autorzy zwracają jednak uwagę na fakt, że nosiciele zmutowanego allelu T istotnie częściej osiągnęli punkt końcowy — wartości ciśnienia kwalifikujące do stopnia 2 nadciśnienia tętniczego (95% CI 1,108–1,843,  $p = 0,006$ ), istotnie częściej konieczne było także włączenie leczenia przeciwnadciśnieniowego. Mimo braku różnic między genotypami w bezwzględnych wartościach ciśnienia, w tym także z całodobowej rejestracji, obecność allelu T w tej grupie wiązano z genetyczną predyspozycją do progresji w kierunku ciężkiego nadciśnienia [26].

Na szczególną uwagę zasługują, podkreślane już wcześniej, różnice w obserwowanym, zależnym od

wieku, wpływie polimorfizmu podjednostki  $\beta 3$  białka G na ciśnienie tętnicze. Prawdopodobnym wytłumaczeniem braku wpływu polimorfizmu GNB3 na wartości ciśnienia w młodszej grupie wiekowej mogą być sprawnie funkcjonujące w młodszym wieku fizjologiczne mechanizmy kompensujące (jak np. nerkowe wydalanie sodu czy duża podatność naczyń obwodowych), niwelujące zależny od tego czynnika genetycznego wzrost ciśnienia tętniczego. Wraz z wiekiem możliwości kompensacyjne ulegają ograniczeniu i może się ujawniać, obserwowany w niniejszym badaniu, niekorzystny wpływ czynnika genetycznego.

W przeprowadzonej analizie nie stwierdzono różnic IMT tętnicy szyjnej wspólnej między poszczególnymi genotypami polimorfizmu C825T GNB3. Ishikawa i wsp. [25] uzyskali podobne wyniki w populacji japońskiej, nie obserwując zależności między polimorfizmem GNB3 a IMT tętnicy szyjnej wspólnej. Również Hanon i wsp. [27] w swojej pracy nie stwierdzili wpływu polimorfizmu GNB3 na IMT tętnicy szyjnej wspólnej. Autorzy wykazali jednak istotnie wyższe wartości IMT tętnicy promieniowej u nosicieli allelu 825T. Można więc przypuszczać, że polimorfizm C825T podjednostki  $\beta 3$  białka G jest związany raczej z przerostem błony mięśniowej dużych naczyń tętniczych niż ze strukturalnymi zmianami w zakresie tętnic sprężystych.

Wyniki niniejszego badania wskazują ponadto na istotny wpływ zmienności allelicznej C825T GNB3 na podatność naczyń. Podwójna mutacja 825T w pokoleniu starszym wiązała się istotnie z większą prędkością szyjno-udowej fali tętna, będącą wykładnikiem większej sztywności naczyń tętniczych.

Wobec uzyskanych wyników trudno jednoznacznie ocenić, które ze zmian w układzie krążenia, obserwowanych u osób homozygotycznych 825TT, pojawiają się wcześniej: wzrost ciśnienia tętniczego czy zwiększenie sztywności dużych tętnic. W tym przypadku trudno jest bowiem odróżnić następstwa od przyczyn: związek między ciśnieniem tętniczym a sztywnością tętnic jest bezpośredni. Wysokie ciśnienie w tętnicy powoduje zmiany strukturalne, przebudowę włóknistą i wzrost sztywności naczynia, która z kolei implikuje wzrost SBP, co powoduje powstanie błędnego koła [28].

W dotychczas opublikowanych pracach brak danych na temat związku polimorfizmu podjednostki z podatnością naczyń tętniczych.

Obserwacje pochodzące z niniejszej pracy mają charakter epidemiologiczny i ich celem nie jest wyjaśnienie bezpośredniego związku przyczynowo-skutkowego. Interpretacja przyczyn obserwowanych związków może się jedynie odwoływać do wyników dotychczasowych publikacji z dziedziny nauk pod-

stawowych: biologii molekularnej czy farmakologii. O ile jednak efekt fenotypowy allelu 825T GNB3 na poziomie komórkowym został dość dobrze poznany (jest nim zwiększona aktywność białka  $G_i$ ), o tyle mechanizm patogenetyczny łączący wzmocnienie transdukcji sygnału przez błonę komórkową z obecnością podwyższonego ciśnienia tętniczego nie jest jasno sprecyzowany.

Jedną z przyjmowanych hipotez jest zwiększona aktywność wymiennika jonowego sodowo-protonowego (NHE, Na/H *Exchanger*) u nosicieli mutacji 825T [5]. Zwiększona aktywność NHE może być jednym z czynników odpowiedzialnych za rozwój nadciśnienia tętniczego, gdyż powoduje zwiększenie zawartości sodu w organizmie i hiperwolemię [29]. Obserwacje kliniczne dostarczają danych popierających tę tezę. Zeltner i wsp. [30] w grupie młodych osób z prawidłowym ciśnieniem i młodych pacjentów z łagodnym nadciśnieniem tętniczym zaobserwowali, że nosiciele allelu 825T charakteryzują się większą szybkością zwrotnej resorpcji sodu w kanałkach nerkowych niż osoby homozygotyczne CC. W pracy Schunkerta i wsp., opartej na badaniu osób z populacji ogólnej, stwierdzono obniżenie aktywności reninowej osocza u nosicieli allelu 825T GNB3 [31]. Turner i wsp. stwierdzili natomiast większy o 5–6 mm Hg spadek ciśnienia tętniczego w odpowiedzi na leczenie diuretykiem u homozygot TT niż homozygot typu CC [32].

Innym wytłumaczeniem wzrostu ciśnienia zależnego od polimorfizmu C825T podjednostki  $\beta_3$  białka G jest zwiększona aktywność układu współczulnego. Mutacja 825T GNB3 może prowadzić do podwyższenia ciśnienia poprzez zwiększoną przezbłonową transdukcję sygnału związaną z receptorami adrenergicznymi  $\alpha$  i  $\beta$  [33]. Wśród osób będących nosicielami mutacji punktowych w obrębie receptorów  $\alpha_{2a}$  i  $\beta_2$  (prowadzących także do zwiększonej aktywacji mediowanego sygnału) Fossuma i wsp. stwierdzili wyższe stężenie katecholamin we krwi w odpowiedzi na stres [34]. Rolę polimorfizmu GNB3 w autonomicznej regulacji układu krążenia podkreślili też Tabara i wsp. [35], którzy obserwowali skłonność do hipotonii ortostatycznej, zależną od genotypu C825T.

Obserwacje innych autorów dostarczają danych na temat relacji między mutacją w obrębie genu podjednostki  $\beta_3$  białka G a oporem obwodowym. Wzrost oporu obwodowego może być zależny zarówno od napięcia ściany naczyniowej, jak i od jej strukturalnej przebudowy. Meirhaeghe i wsp. w swojej pracy [36] stwierdzili, że odpowiedź tętnic wieńcowych na czynniki naczynioskurczowe jest znacznie wyższa u nosicieli allelu 825T GNB3 niż u osób homozygotycznych CC. Podobne wyniki uzyskali Baumgart i wsp. [37], obserwując większe upośledzenie przepływu w tętnicach

wieńcowych po aktywacji receptorów  $\alpha_2$  u nosicieli allelu 825T. Wzmocniona wazokonstrykcja w odpowiedzi na endotelinę-1, angiotensynę II oraz noradrenalinę charakteryzowała także nosicieli allelu 825T GNB3 w grupie młodych osób z prawidłowym ciśnieniem tętniczym w badaniu Wenzela i wsp. [38].

U osób będących nosicielami mutacji 825T GNB3 może także dochodzić do silniejszej odpowiedzi proliferacyjnej mięśniówki gładkiej. Proliferacja miocytów błony środkowej naczyń w odpowiedzi na angiotensynę II działającą przez receptor  $AT_1$  jest mediowana przez układ sygnałowy związany z białkiem G wrażliwym na toksynę krztuśca [39]. Z drugiej strony, zwiększona aktywność NHE, stanowiąca fenotyp pośredni genu podjednostki  $\beta_3$  białka G, jest także związana ze wzmoczoną aktywnością proliferacyjną w obrębie ścian naczyń i z proliferacją kardiomiocytów oraz fibroblastów w sercu [19, 29].

## Wnioski

Częstość poszczególnych genotypów polimorfizmu C825T genu podjednostki  $\beta_3$  białka G w populacji regionu krakowskiego jest zbliżona do obserwowanej w innych populacjach europejskich.

Osoby z nadciśnieniem tętniczym nie różnią się istotnie od osób z prawidłowymi wartościami ciśnienia tętniczego pod względem częstości występowania alleli polimorficznych C825T genu podjednostki  $\beta_3$  białka G.

Wpływ polimorfizmu C825T genu podjednostki  $\beta_3$  białka G na ciśnienie tętnicze oraz parametry funkcji naczyń jest istotny tylko w starszej grupie pokoleniowej badanej populacji. Wyższe wartości ciśnienia tętniczego oraz obniżoną podatność naczyń tętniczych stwierdzono u osób homozygotycznych TT niż u nosicieli allelu C. Obserwacja ta przemawia za recesywnym modelem efektu fenotypowego polimorfizmu C825T GNB3 ujawniającym się w starszej grupie pokoleniowej.

*\*Praca została zrealizowana w ramach europejskiego projektu dotyczącego badań nad dziedzicznością nadciśnienia tętniczego — European Project on Genes in Hypertension (EPOGH) [40].*

## Streszczenie

Celem pracy była ocena — na podstawie wyników badań obejmujących rodziny — wpływu polimorfizmu C825T genu podjednostki  $\beta_3$  białka G (GNB3)

na wartość ciśnienia tętniczego oraz parametry sztywności i przebudowy dużych naczyń tętniczych. Badaniem objęto 142 rodziców (wiek  $50,3 \pm 5,0$  lat) i 184 potomków (wiek  $24,0 \pm 4,7$  roku) z 86 rodzin nuklearnych włączonych do międzynarodowego programu EPOGH (*European Project on Genes in Hypertension*). U każdej osoby wykonano standardowe pomiary ciśnienia oraz całodobową automatyczną rejestrację ciśnienia (*aparatury SpaceLabs 90207*). Nasilenie procesu miażdżycy oceniono w ultrasonograficznym badaniu tętnic szyjnych. Ocenę podatności ściany dużych naczyń tętniczych przeprowadzono, wykorzystując pomiar centralnej szybkości fali tętna. Oznaczenia polimorfizmu C825T wykonano z wykorzystaniem metody łańcuchowej reakcji polimerazy i trawienia produktów amplifikacji przy użyciu enzymu restrykcyjnego BseDI.

Częstość genotypów (CC 42,3%, CT 50,9%, TT 6,8%) w badanej grupie była zgodna z przewidywaną według prawa Hardy'ego-Weinberga ( $p = 0,21$ ). Pacjenci z naciśnieniem nie różnili się od osób z prawidłowym ciśnieniem tętniczym pod względem częstości poszczególnych genotypów badanego polimorfizmu ( $p = 0,89$ ). W pokoleniu rodziców wartości dobowego, dziennego i nocnego skurczowego ciśnienia tętniczego były o 5–7 mm Hg wyższe u osób homozygotycznych TT niż u nosicieli allelu C ( $p = 0,04$ ). Podobnie, w pokoleniu starszym obserwowano u osobników homozygotycznych TT wyższe wartości prędkości fali tętna ( $11,9 \pm 2,2$  vs.  $10,4 \pm 1,5$  m/s). W pokoleniu potomków nie obserwowano różnic zależnych od genotypu w żadnym z analizowanych parametrów.

Wyłącznie w pokoleniu rodziców u homozygot TT stwierdzono wyższe wartości ciśnienia tętniczego i obniżoną podatność naczyń tętniczych w porównaniu z nosicielami allelu C. Obserwacja ta wskazuje na recesywny model efektu fenotypowego polimorfizmu C825T GNB3 ujawniający się w starszej grupie pokoleniowej.

**słowa kluczowe: naciśnienie tętnicze, genetyka, GNB3, naczynia**

*Naciśnienie Tętnicze 2004, tom 8, nr 2, strony 119–131.*

## Piśmiennictwo

- Bourne H.R. How receptors talk to trimeric G proteins. *Curr. Opin. Cell. Biol.* 1997; 9: 134–142.
- Siffert W. G proteins, hypertension and coronary heart disease — novel findings and hypotheses. *Kidney Blood Press Res.* 1996; 19: 71–80.
- Siffert W., Roskopf D., Moritz A. i wsp. Enhanced G protein activation in immortalized lymphoblasts from patients with essential hypertension. *J. Clin. Invest.* 1995; 96: 759–766.
- Pietruck F., Moritz A., Montemurro M. i wsp. Selectively enhanced cellular signalling by G<sub>i</sub> proteins in essential hypertension. G<sub>αi2</sub>, G<sub>αi3</sub>, G<sub>β2</sub> are not mutated. *Circ. Res.* 1996; 79: 974–983.
- Siffert W., Roskopf D., Siffert S., Wichmann H.E., Jakobs K.H., Horstemke B. Association of a human G-protein β3 variant with hypertension. *Nat. Genet.* 1998; 18: 45–48.
- Schunkert H., Hense H.W., Doring A., Riegger G.A.J., Siffert W. Association between a polymorphism in the G protein β3 subunit gene and lower renin and elevated diastolic blood pressure levels. *Hypertension* 1998; 32: 510–513.
- 2003 European Society of Hypertension — European Society of Cardiology Guidelines for the management of arterial hypertension. *J. Hypertens.* 2003; 21: 1011–1053.
- Pignoli P., Tremoli E., Poli A., Oreste P., Paoletti R. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation* 1986; 74: 1399–1406.
- The SAS Institute. The GENMOD procedure. SAS Online Doc Version 7.1 : SAS/STAT. Cary, North Caroline, USA: The SAS Institute Inc., 2000: 1311–1411.
- Siffert W., Forster P., Jockel K.H. i wsp. Worldwide ethnic distribution of the G protein beta3 subunit 825T allele and its association with obesity in Caucasian, Chinese, and Black African individuals. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1999; 10: 1921–1930.
- Shlyakhto E.V., Shwartz E.I., Nefedova Y.B., Zukova A.V., Vinnic T.A., Konrady A.O. Lack of association of G-protein subunit gene C825T polymorphism with left ventricular hypertrophy in essential hypertension. *Med. Sci. Monit.* 2002; 8: CR 337–340.
- Snair A., Heinonen P., Tuomainen T. i wsp. G-protein beta3 subunit C825T polymorphism: no association with risk for hypertension and obesity. *J. Hypertens.* 2001; 19: 2149–2155.
- Schorr U., Blaschke K., Beige J., Distler A., Sharma A.M. G-protein beta3 subunit 825T allele and response to dietary salt in normotensive men. *J. Hypertens.* 2000; 18: 855–859.
- Sedlacek K., Fischer M., Erdmann J. i wsp. Relation of the G protein beta3-subunit polymorphism with left ventricle structure and function. *Hypertension* 2002; 40: 162–167.
- Roskopf D., Manthey I., Siffert W. Identification and ethnic distribution of major haplotypes of the gene GNB3 encoding the G-protein beta3 subunit. *Pharmacogenetics* 2002; 12: 209–220.
- Brand E., Herrmann S.M., Nicaud V. i wsp. The 825C/T polymorphism of the G-protein subunit β3 is not related to hypertension. *Hypertension* 1999; 33: 1175–1178.
- Poch E., Gonzalez D., Gomez-Anelats S. i wsp. G-protein β3 subunit gene variant and left ventricular hypertrophy in essential hypertension. *Hypertension* 2000; 35 (cz. 2): 214–215.
- Poch E., Giner V., Gonzalez-Nunez D., Coll E., Oriola J., de la Sierra A. Association of the G protein beta3 subunit T allele with insulin resistance in essential hypertension. *Clin. Exp. Hypertens.* 2002; 24: 345–353.
- Semplicini A., Lusiani L., Marzola M. i wsp. Erythrocyte Li<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> and Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange, cardiac anatomy and function in insulin-dependent diabetics. *Eur. J. Clin. Invest.* 1992; 22: 254–259.
- Dzida G., Golon-Siekierska P., Puzniak A. i wsp. G-protein beta3 subunit gene C825T polymorphism is associated with arterial hypertension in Polish patients with type 2 diabetes mellitus. *Med. Sci. Monit.* 2002; 8: 597–602.
- Zychma M.J., Żuchowska-Szczęchowska E., Ossowska-Szymkiewicz I., Trautsolt W., Grzeszczak W. G-Protein beta (3) subunit C825T variant, nephropathy and hypertension in patients with type 2 (Non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Am. J. Nephrol.* 2000; 20: 305–310.

22. Beige J., Hohenbleicher H., Distler A., Sharma A.M. the G-protein subunit  $\beta 3$  C825T variant and ambulatory blood pressure on essential hypertension. *Hypertension* 1999; 33: 1049–1051.
23. Hengstenberg C., Schunkert H., Mayer B. i wsp. Association between a polymorphism in the G protein  $\beta 3$  subunit gene (GNB3) with arterial hypertension but not with myocardial infarction. *Cardiovas. Res.* 2001; 49: 820–827.
24. Buchmayer H., Sunder-Plassmann G., Hirschl M.M. i wsp. G-protein  $\beta 3$  subunit gene (GNB3) polymorphism 825C $\rightarrow$ T in patients with hypertensive crisis. *Crit. Care Med.* 2000; 28: 3203–3206.
25. Ishikawa K., Imai Y., Katsuya T. i wsp. Human G-protein  $\beta 3$  subunit variant is associated with serum potassium and total cholesterol levels but not with blood pressure. *Am. J. Hypertens.* 2000; 13: 140–145.
26. Sartori M., Semplicini A., Siffert W. i wsp. G-protein  $\beta 3$  subunit gene 825T allele and hypertension. A longitudinal study in young grade I hypertensives. *Hypertension* 2003; 42: 909–914.
27. Hanon O., Luong V., Mourad J.J., Bortolotto L.A., Safar M., Girerd X. Association between the G protein  $\beta 3$  subunit 825T allele and radial artery hypertrophy. *J. Vasc. Res.* 2002; 39: 497–503.
28. Rajzer M., Kawecka-Jaszcz K. Podatność tętnic w nadciśnieniu tętniczym. Od patofizjologii do znaczenia klinicznego. *Nadciśnienie Tętnicze* 2002; 6: 61–73.
29. Roskopf D., Frömter E., Siffert W. Hypertensive sodium-proton exchanger phenotype persists in immortalized lymphoblasts from essential hypertensive patients — a cell culture model for human hypertension. *J. Clin. Invest.* 1993; 92: 2553–2559.
30. Zeltner R., Delles C., Schneider M., Siffert W., Schmieder RE. G-protein  $\beta 3$ -subunit gene (GNB3) 825T allele is associated with enhanced renal perfusion in early hypertension. *Hypertension* 2001; 37: 882–886.
31. Schunkert H., Hense H.W., Doring A., Riegger G.A.J., Siffert W. Association between a polymorphism in the G protein  $\beta 3$  subunit gene and lower renin and elevated diastolic blood pressure levels. *Hypertension* 1998; 32: 510–513.
32. Turner S.T., Schwartz G.L., Chapman A.B., Boerwinkle E. C825T polymorphism of the G protein  $\beta 3$ -subunit and anti-hypertensive response to a thiazide diuretic. *Hypertension* 2001; 37 (cz. 2): 739–743.
33. Farfel Z., Bourne H.R., Iiri T. The expanding spectrum of G protein diseases. *N Engl. J. Med.* 1999; 340: 1012–1020.
34. Fossum E., Berge K.E., Hoieggren A. i wsp. Polymorphism in candidate genes for blood pressure regulation in young men with normal or elevated screening blood pressure. *Blood Press* 2001; 10: 92–100.
35. Tabara Y., Kohara K., Miki T. Polymorphism of genes encoding components of the sympathetic nervous system but not the renin-angiotensin system as a risk factors for orthostatic hypotension. *J. Hypertens.* 2002; 20: 651–656.
36. Meirhaeghe A., Bauters C., Helbecque N. i wsp. The human G-protein  $\beta 3$  subunit C825T polymorphism is associated with coronary artery vasoconstriction. *Eur. Heart J.* 2001; 22: 845–848.
37. Baumgart D., Naber C., Haude M. i wsp. G protein  $\beta 3$  subunit 825T allele and enhanced coronary vasoconstriction on alpha (2)-adrenoceptor activation. *Circ. Res.* 1999; 85: 965–969.
38. Wenzel R.R., Siffert W., Bruck H., Philipp T., Schafers R.F. Enhanced vasoconstriction to endothelin-1, angiotensin II and noradrenaline in carriers of the GNB3 825T allele in the skin microcirculation. *Pharmacogenetics* 2002; 12: 489–495.
39. Siffert W. G proteins, hypertension and coronary heart disease — novel findings and hypotheses. *Kidney Blood Press Res.* 1996; 19: 71–80.
40. Kawecka-Jaszcz K. European Project on Genes in Hypertension (EPOGH) — informacja o programie. *Nadciśnienie Tętnicze* 2000; 4: 221–223.

