

Steen Andersen¹, Lise Tarnow¹, Francois Cambien², Peter Rossing¹, Tina R. Juhl¹, Jaap Deinum³, Hans-Henrik Parving^{1, 4}

¹Steno Diabetes Center, Kopenhaga, Dania

²INSERM U525, Paryż, Francja

³Department of Internal Medicine I, University Hospital Dijkzigt, Rotterdam, Holandia

⁴Faculty of Health Science, Aarhus University, Aarhus, Dania

Długoterminowy efekt nefroprotekcynny losartanu w nefropatii cukrzycowej

Interakcja z genotypem delekcji/insercji ACE?

Long-term renoprotective effects of losartan in diabetic nephropathy
Interaction with ACE insertion/deletion genotype?

Przedrukowano za zgodą z: *Diabetes Care* 2003, 26, 5, 1501–1506

STRESZCZENIE

WSTĘP. W kilku badaniach obserwacyjnych wykazano, że allel D, będący formą polimorfizmu genu dla ACE (ACE/ID), większa ryzyko utraty funkcji nerek, nawet przy zastosowaniu inhibitorów konwertazy angiotensyny (ACE, *angiotensin converting enzyme*). Celem badania była ocena długoterminowego efektu nefroprotekcynnego losartanu (w dawce 100 mg/d.) — antagonisty podtypu 1 (AT1) receptora angiotensyny II u chorych na cukrzycę typu 1 o genotypie II i DD ze współistniejącą nefropatią cukrzycową.

MATERIAŁ I METODY. Do badania włączono 54 chorych na cukrzycę typu 1 ze współistniejącym nadciśnieniem tętniczym oraz nefropatią cukrzycową, homozygotycznych w allelu insercji (n = 26) lub delekcji (n = 28). Po 4-tygodniowym okresie *wash-out* do leczenia włączono losartan (1 tabletka = 100 mg/d.). Czas obserwacji prospektywnej wynosił średnio

36 miesięcy. Badanie przeprowadzono metodą podwójnie ślepej próby względem rodzaju genotypu. Przy włączeniu do badania oraz, po 2, 4 miesiącach, a następnie co 6 miesięcy oznaczano wielkość filtracji kłębuszkowej (GFR, *glomerular filtration rate*), albuminurię i wykonano 24-godzinny pomiar ciśnienia tętniczego (BP, *blood pressure*).

WYNIKI. Oznaczone wyjściowo parametry: GFR, albuminuria i 24-godzinny pomiar BP były porównywalne w obu grupach. Odpowiednio otrzymano wyniki: średnia (SD, *standard deviation*) 86 (22) vs. 88 (24) ml/min/1,73 m²; mediana (przedział międzykwartylowy) 1134 (598–2023) vs. 1451 (893–1766) mg/24 h; średnia (SD) 156/82 (17/9) vs. 153/80 (17/11) mm Hg. Wielkość filtracji kłębuszkowej obniżyła się w obu grupach, odpowiednio II vs. DD (p = 0,4): średnia geometryczna (95% CI), 2,9 (2,0–4,2) vs. 3,4 (2,3–5,1) ml/min/rok. Albuminuria i ciśnienie tętnicze zmniejszyły się istotnie podczas badania; między grupami nie stwierdzono istotnych różnic. Podczas obserwacji albuminuria obniżyła się w grupach II i DD odpowiednio o 75% (95% CI 59–85) i o 73% (56–83) (p < 0,01 vs. wartości wyjściowe). Średnie ciśnienie tętnicze skurczowe i rozkurczowe wynosiło 139/74 mm Hg (14/8) w obu grupach genotypowych (p < 0,01 vs. wartości wyjściowe).

WNIOSKI. Rezultaty pracy autorów są sprzeczne z wynikami poprzednich badań z zastosowaniem inhibitorów ACE i wskazują, że efekt nefroprotekcynny

Adres do korespondencji: Steen Andersen
Steno Diabetes Center, Niels Steensensvej 2, 2820 Gentofte
e-mail: stan@dadlnet.dk

Copyright © 2003 by American Diabetes Association, Inc
American Diabetes Association nie odpowiada za poprawność tłumaczenia z języka angielskiego

Diabetologia Praktyczna 2003, tom 4, nr 3, 211–218

Copyright © 2003 Via Medica

Tłumaczenie: lek. Monika Łukaszewicz

Wydanie polskie: Via Medica

ny długoterminowego leczenia losartanem jest porównywalny u chorych na cukrzycę typu 1 ze współistniejącym nadciśnieniem tętniczym z genotypem II i DD genu ACE, a ponadto opóźnia progresję nefropatii cukrzycowej u tych osób.

Słowa kluczowe: nefropatia cukrzycowa, polimorfizm ACE, losartan

ABSTRACT

INTRODUCTION. Several observational follow-up studies have found that the D allele of the insertion (I)/deletion (D) polymorphism of the ACE gene (ACE/ID) is associated with an increased risk of renal function loss, even during ACE inhibition. Therefore, we investigated the long-term effect of the angiotensin II subtype-1 (AT1) receptor antagonist losartan (100 mg o.d.) on kidney function in II and DD type 1 diabetic patients with diabetic nephropathy.

MATERIAL AND METHODS. A total of 54 hypertensive type 1 diabetic patients with diabetic nephropathy homozygous for the insertion (n = 26) or the deletion (n = 28) allele were included in the study. After a 4-week washout, the patients received losartan (tablet, 100 mg o.d.) and were followed prospectively with a mean follow-up period of 36 months. Patients and investigators were blinded to ACE genotypes. At baseline, after 2 and 4 months and every 6 months thereafter, glomerular filtration rate (GFR), albuminuria, and 24-h blood pressure were determined.

RESULTS. At baseline, GFR, albuminuria, and blood pressure were similar in the two genotype groups, II vs. DD: mean (SD), 86 (22) vs. 88 (24) ml \times min⁻¹ \times 1.73 m⁻²; median (interquartile range), 1,134 (598–2,023) vs. 1,451 (893–1,766) mg/24 h; and mean (SD), 156/82 (17/9) vs. 153/80 (17/11) mm Hg, respectively. GFR decreased similarly in both genotype groups, versus DD, respectively (P = 0.4): geometric mean (95% CI), 2.9 (2.0–4.2) vs. 3.4 (2.3–5.1) ml \times min⁻¹ \times year⁻¹. Albuminuria and arterial blood pressure were significantly reduced during the study; no differences were noted between groups. During follow-up, albuminuria was decreased by 75% (95% CI 59–85) and 73% (56–83) in the II and DD groups, respectively (P < 0.01 vs. baseline). Mean systolic and diastolic blood pressures were 139/74 mm Hg (14/8) in both genotype groups during the study (P < 0.01 vs. baseline).

CONCLUSIONS. In contrast to previous observational studies with ACE inhibitors, longterm treatment with losartan has similar beneficial renoprotective effects on progression of diabetic nephropathy in hypertensive type 1 diabetic patients with ACE II and DD genotypes.

Key words: diabetic nephropathy, ACE polymorphism, losartan

Wstęp

W ostatniej dekadzie opublikowano wiele prac na temat związku między występowaniem określonego allelu — delecji lub insercji — polimorficznego genu kodującego enzym konwertujący angiotensynę (ACE, *angiotensin converting enzyme*) (ACE/ID) a pojawieniem się [1] i progresją cukrzycowego i niecukrzycowego uszkodzenia nerek [2–12]. U chorych z homozygotycznym genotypem DD stężenia osoczowe ACE są podwyższone w porównaniu z homozygotami II, co może wyjaśniać różną odpowiedź na inhibitory ACE [13, 14]. U chorych na cukrzycę typu 1, DD-homozygotycznych, z nefropatią cukrzycową wykazano osłabienie długoterminowego efektu nefroprotekcijnego zahamowania konwertazy angiotensyny [3]. Ponadto sugeruje się, że polimorfizm ACE/ID odgrywa istotną rolę w osobniczej odpowiedzi dotyczącej wielkości białkomoczu na stosowanie inhibitorów ACE w nefropatii cukrzycowej [4, 15]. W przypadkach nefropatii niezwiązanych z cukrzycą wyniki badań są sprzeczne [2, 11, 12, 16, 17].

Umożliwienie działania angiotensyny II przez zablokowanie receptora AT1 może przewyżżyć interakcję między polimorfizmem ACE/ID i hamowaniem konwertazy angiotensyny. Dlatego celem badania stała się ocena długoterminowego wpływu nefroprotekcijnego blokady receptora AT1 na rozwój nefropatii cukrzycowej u chorych na cukrzycę typu 1 ze współistniejącym nadciśnieniem tętniczym, homozygotycznych DD i II w polimorficznym allelu ACE/ID.

Material i metody

Od 1993 roku wszystkim chorym na nefropatię cukrzycową leczonym w *Steno Diabetes Center* proponowano udział w badaniu genetycznych czynników ryzyka rozwoju nefropatii cukrzycowej, obejmującym analizę polimorfizmu genu ACE/ID. W obecnym badaniu autorzy poddali analizie pacjentów *Steno* z nefropatią cukrzycową, będących homozygotami II lub DD w obrębie danego allela. Kryteria włączenia do badania spełniło łącznie 85 chorych (II — 39, DD — 46). Zgodę na uczestnictwo uzyskano od 56 z nich. Dane demograficzne osób, które nie zakwalifikowały się do badania z powodu braku zgody, oraz dane osób z grupy badanej były podobne (nie przedstawiono ich w publikacji). Obserwację przeprowadzono metodą ślepej próby; zarówno pacjentów, jak i lekarzy nie informowano o genotypach. Znał je jedynie jeden lekarz, który kwalifikował chorych do badania na podstawie występowania u nich

homozygotycznych alleli opisanych w rejestrze. Z powodu choroby nowotworowej w jednym przypadku oraz niewydolności serca wymagającej leczenia inhibitorem ACE w drugim, 2 chorych wyłączono z badania w 1. miesiącu. Ze względów rodzinnych 1 pacjent wycofał zgodę na badanie w 4. miesiącu obserwacji. Ostatecznie w projekcie uczestniczyło 53 chorych: 26 homozygot II i 27 homozygot DD, a minimalny czas obserwacji wynosił 18 miesięcy. Rzetelność realizacji zaleceń lekarza oceniano na podstawie liczby zwróconych tabletek. Pacjenci spełnili kryterium współpracy w ponad 85%.

Przed włączeniem do badania wszystkich chorych (52 osoby) leczono hipotensyjnie: 42 osoby — inhibitorem ACE, zaś pozostałe 10 — blokerami kanałów wapniowych. Przed rozpoczęciem obserwacji wstrzymano terapię hipotensyjną na co najmniej 4 tygodnie. Wszyscy pacjenci spełniali kryteria włączenia obejmujące: obecność nefropatii cukrzycowej, GFR powyżej 60 ml/min/1,73 m², wartość BP mierzona w gabinecie lekarskim powyżej 135/85 mm Hg oraz wiek 18–70 lat. Nefropatię cukrzycową definiowano jako stałą albuminurię (> 300 mg/24 h) z towarzyszącą retinopatią cukrzycową oraz brakiem innych, ewidentnych przyczyn chorób nerek lub dróg moczowych [18]. Do kryteriów wyłączenia należały: nowotwór złośliwy w wywiadzie, zastoinowa niewydolność serca oraz zawał serca lub udar mózgu przebyte w ostatnich 3 miesiącach. Badanie przeprowadzono zgodnie z Deklaracją Helsińską i zaaprobowaną je komisją etyczna *Copenhagen County*. Po zapoznaniu się z informacją o projekcie wszyscy chorzy podpisali świadomą zgodę na uczestnictwo.

Pacjentów włączano do badania w okresie od czerwca 1998 roku do grudnia 1999 roku. Średni czas obserwacji prospektywnej wynosił 36 miesięcy (18–42 miesięcy), zakończyła się ona w grudniu 2001 roku. Podczas pierwszych 2 miesięcy badani otrzymywali losartan w dawce 50 mg na dobę, a przez kolejne 2 miesiące, w dawce 100 mg na dobę, niezależnie od wartości ciśnienia tętniczego. Dawkowanie to ustalono, by ocenić krótkoterminowy efekt zmniejszenia proteinurii i obniżenia ciśnienia tętniczego [19]. Po tym okresie kontynuowano leczenie losartanem w dawce 100 mg na dobę u wszystkich pacjentów, dodając inne leki hipotensyjne (diuretyki, blokery kanałów wapniowych, leki α -adrenolityczne), aby uzyskać ciśnienie tętnicze nieprzekraczające wartości 135/85 mm Hg. Nie wprowadzano ograniczeń dietetycznych dotyczących spożywania soli lub białka. Podczas wizyt kontrolnych, odbywających się co 3 miesiące, mierzono BP i w zależności od uzyskanych wartości wprowadzano zmiany w leczeniu hipotensyjnym. Co 6 miesięcy wykonywano badania

laboratoryjne: oznaczano GFR, albuminurię i 24-godzinny profil ciśnienia tętniczego.

Genotypowanie ACE/ID przeprowadzono, stosując allele-specyficzne oligonukleotydy i PCR [20, 21]. Wskaźnik filtracji kłębuszkowej obliczano po jednorazowym, dożylnym podaniu 3,7 MBq ⁵¹Cr-EDTA o 8.00 rano i oznaczeniu radioaktywności próbek krwi żyłnej, pobranych 180, 200, 220 i 240 minut po iniekcji [22, 23]. Wyniki standaryzowano do powierzchni ciała równej 1,73 m²; powierzchnię ciała chorego obliczano na początku badania. Średni współczynnik wariacji GFR u osób biorących udział w badaniu wynosił 4%.

Albuminurię obliczono jako średnią geometryczną oznaczeń z co najmniej 2 zbiórek dobowych zakończonych w dniu wizyty (*Turbidimetria, Cobas Mira Plus; Roche, Montclair, NJ*). Wydalanie sodu i mocznika oznaczano w każdej zbiorce moczu (*Cobas Mira Plus; Roche*). Oznaczenie wydalania mocznika służyło obliczeniu ilości białka w diecie na podstawie zawartości azotu w moczu i oszacowanej wartości azotu pozamocznikowego — 31 mg/kg/d. [24].

W próbkach krwi żyłnej oznaczono stężenie potasu, sodu, kreatyniny i cholesterolu (*Cobas Mira Plus; Roche*). Stężenie hemoglobiny glikowanej (HbA_{1c}) określono metodą wysokosprawną chromatografię cieczową (wartość referencyjna 4,1–6,4%) (*Variant; Biorad, Richmond, CA*). Próbkę krwi służące oznaczeniu stężenia angiotensyny II pobierano do zimnych probówek po 30-minutowym odpoczynku w pozycji leżącej i natychmiast odwirowywano w temperaturze 4°C. Badanie wykonywano metodą radioimmunologiczną [25]. Stężenia reniny oznaczano metodą opisaną przez Deinum i wsp. [26].

Pomiary całodobowe ciśnienia tętniczego przeprowadzono za pomocą aparatów Takeda TM2420 (wersja 7; A&D, Tokio, Japonia). Ciśnienie tętnicze mierzono co 15 minut w ciągu dnia (7.00–23.00) i co 30 minut w nocy (23.00–7.00). Przed obliczeniem ciśnienia dobowego uśredniano wartości dla każdej godziny.

Dane przedstawiono jako średnie \pm odchylenie standardowe (SD, *standard deviation*) (tab. 1) i średnie \pm SD z wyjątkiem danych dotyczących albuminurii, reninemii, stężenia angiotensyny II, aldosteronu, ACE, stopnia spadku GFR, które przed analizą statystyczną poddano transformacji logarytmicznej ze względu na ich różną dystrybucję, a następnie przedstawiono jako średnie geometryczne (95-procentowy przedział ufności [CI, *confidence interval*]). Wyjściową albuminurię przedstawiono jako medianę (przedział międzykwartyłowy). Porównanie parametrów dystrybuowanych normalnie i log-normalnie przeprowadzono z zastosowaniem testu *t*-Studenta. Stopień pogorszenia funkcji nerek oceniano metodą regresji liniowej dla GFR dla indywidualnych prze-

Tabela 1. Charakterystyka wyjściowa 54 chorych na cukrzycę typu 1 z nefropatią cukrzycową i nadciśnieniem tętniczym, homozygotycznych II (n = 26) lub DD (n = 28) w polimorficznym genie ACE/ID

	Genotyp ACE	
	II	DD
Płeć (mężczyźni/kobiety)	16/10	17/11
Wiek (lata)	44 ± 10	45 ± 8
Czas trwania cukrzycy (lata)	34 ± 8	33 ± 10
Czas trwania nefropatii (lata)	12 ± 7	12 ± 6
Retinopatia (prosta/proliferacyjna) (%)	12/88	25/75
Albuminuria (mg/24 h)	1134 (598–2023)	1451 (893–1766)
24-godzinne SBP [mm Hg]	156 ± 17	153 ± 17
24-godzinne DBP [mm Hg]	82 ± 9	80 ± 11
GFR (ml/min/1,73 m ²)	86 ± 22	88 ± 24

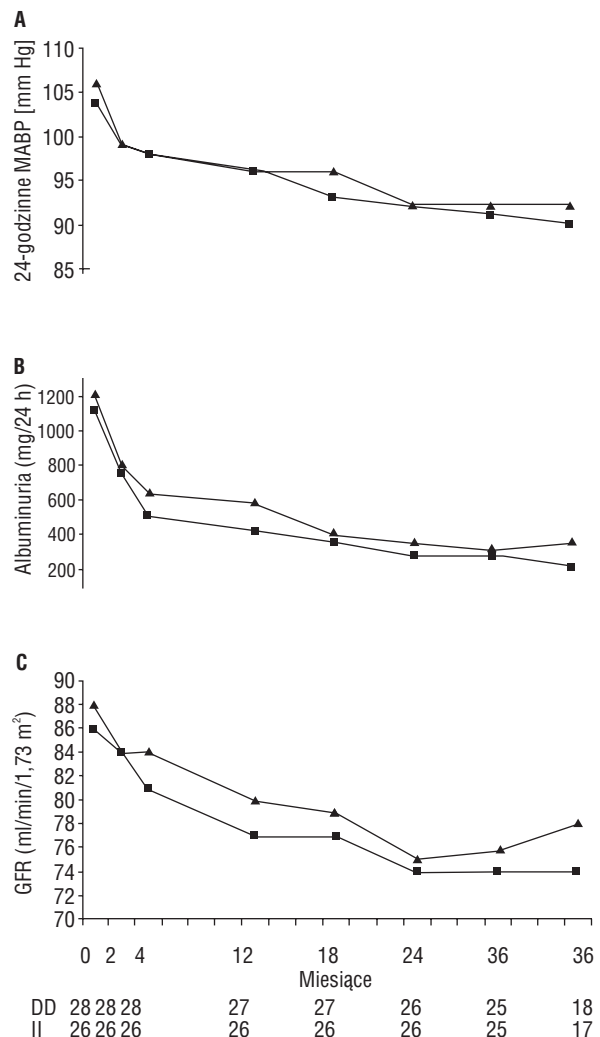
Dane przedstawiono jako średnie ± SD lub mediany (przedział międzykwartylowy); SBP (systolic blood pressure) — skurczowe ciśnienie tętnicze; DBP (diastolic blood pressure) — rozkurczowe ciśnienie tętnicze

działów czasu w okresie leczenia. Po porównaniu grup genotypowych II i DD wyniki poddano wieloczynnikowej regresji liniowej, by wyodrębnić związek domniemanych czynników postępu nefropatii ze stopniem spadku GFR.

Pożądaną wielkość badanej grupy wyliczono na podstawie danych uzyskanych ze wstępnej analizy 40 osób z nadciśnieniem tętniczym chorych na cukrzycę typu 1 ze współistniejącą nefropatią cukrzycową. Wskaźnik filtracji kłębuszkowej w tej grupie wynosił powyżej 40 ml/min/1,73 m². Odchylenie standardowe stopnia spadku GFR w tej grupie wyniosło 2,5 ml/min/rok w trakcie leczenia hipotensyjnego. Aby wykryć różnicę w stopniu spadku GFR o 2 ml/min/rok ($\alpha = 5\%$, $\beta = 20\%$), do obecnego badania należało włączyć 48 pacjentów. Za istotną przyjęto wartość $p < 0,05$ (2 odnogi). Dane opracowano, stosując oprogramowanie statystyczne SPSS (wersja 10.0, SPSS, Chicago, IL).

Wyniki

Charakterystyka kliniczna obu grup genotypowych nie różniła się istotnie (tab. 1): uzyskano znamienny spadek 24-godzinnej średniej ciśnienia tętniczego (MABP, mean arterial blood pressure). W grupie homozygot II jego wartość obniżyła się z wyjściowej 106 ± 2 mm Hg (średnia ± SE) do średnio 95 ± 1 mm Hg podczas badania ($p < 0,01$). U pacjentów z grupy homozygot DD uzyskano redukcję średniego 24-godzinnej ciśnienia tętniczego z wyjściowej wartości 104 ± 2 mm Hg do 95 ± 1 mm Hg ($p < 0,01$). Nie stwierdzono różnic spadku wartości ciśnienia między obiema grupami genotypowymi (ryc. 1).



Rycina 1. 24-godzinne średnie ciśnienie tętnicze (MABP) (A), albuminuria (B), i GFR (C) u chorych II (■) i DD (▲).

W obu grupach stwierdzono zmniejszenie GFR w okresie badania. W grupie homozygot II obniżyło się ono o 2,9 ml/min/rok (2,0–4,2), a w grupie DD o 3,4 ml/min/rok (2,3–5,1) ($p = 0,4$ II vs. DD).

Podczas leczenia losartanem w obu grupach obserwowano zmniejszenie albuminurii. Po 4 miesiącach obniżyła się ona w stosunku do wartości wyjściowej o 55% (95% CI 35–68; $p < 0,01$) w grupie II oraz o 46% (28–61; $p < 0,01$) w grupie DD (różnica między grupami statystycznie nieznamienna). Interesujący jest fakt, że po 30 miesiącach obserwacji uzyskano dalszy spadek o 75% (59–85) oraz o 73% (56–83) odpowiednio w grupach II i DD (różnica nieznamienna statystycznie).

Jak oczekiwano, stężenia ACE były istotnie wyższe u chorych homozygotycznych DD, ale pozostały niezmiennione podczas badania w obu grupach. W tabeli 2 przedstawiono podobny w obu grupach wzrost stężenia reniny i angiotensyny II. Stężenia reniny, ACE, angiotensyny II oraz aldosteronu w okresie badań kontrolnych na końcu badania reprezentują pojedyncze oznaczenia. Dodatkowymi danymi z tego okresu, przedstawionymi w tabeli 2, są średnie oznaczeń wykonywanych 2-krotnie w ciągu roku, poza stężeniem HbA_{1c}, które oznaczano co 3 miesiące.

W analizie regresji wieloczynnikowej oceniano czynniki progresji spadku GFR. Istotnym czynnikiem predykcyjnym spadku GFR ($p < 0,05$) okazały się wysokie wartości wyjściowej albuminurii i ciśnienia tętniczego w okresie obserwacji. Okazało się, że genotyp ACE/ID nie wpływa na spadek GFR.

W grupie homozygot II odnotowano 1 zgon z powodu udaru mózgu po 26 miesiącach obserwacji. U 1 chorego w grupie DD po 24 miesiącach doszło do schyłkowej niewydolności nerek, ponadto 1 osoba z tej grupy przerwała udział w badaniu po 18 miesiącach, lecz w momencie zakończenia badania było wiadomo, że żyje i nie rozwinęła się u niej schyłkowa niewydolność nerek. U 2 pacjentów wystąpiła hipotonia ortostatyczna (1 w każdej z grup genotypowych). Poza tym nie odnotowano żadnych innych działań niepożądanych związanych z badanym lekiem.

Pod koniec badania 40 pacjentów otrzymywało diuretyk (17 II i 23 DD; NS), 12 pacjentów — blokery kanałów wapniowych (7 II i 5 DD; NS), a 3 pacjentów — lek α -adrenolityczny (1 II vs. 2 DD; NS) jako dodatkowe leczenie hipotensyjne. Leki hipolipemizujące przyjmowało 10 chorych. Wszyscy uczestnicy badania otrzymywali małe dawki kwasu acetylosalicylowego w ramach pierwotnej lub wtórnej prewencji chorób układu sercowo-naczyniowego.

Wnioski

Badanie autorów miało charakter podwójnie ślepej, prospektywnej próby interwencyjnej ze średnim okresem obserwacji wynoszącym 36 miesięcy. Zastosowany w nim losartan — antagonistą receptora AT1 — wykazał korzystne działanie nefroprotekcyjne oraz obniżył ciśnienie tętnicze, przy czym efekty te były porównywalne u chorych na cukrzycę typu 1 z albuminurią, homozygotycznych II i DD

Tabela 2. Dane laboratoryjne uzyskane podczas leczenia losartanem 100 mg chorych na cukrzycę typu 1 z nefropatią cukrzycową, nadciśnieniem tętniczym, homozygotycznych II lub DD w polimorficznym genie ACE/ID

	Dane wyjściowe		Badania kontrolne	
	II	DD	II	DD
Hemoglobina [mmol/l]	8,6 ± 0,2	8,9 ± 0,2	8,3 ± 0,2†	8,4 ± 0,2†
HbA _{1c} (%)	8,7 ± 0,2	9,0 ± 0,2	9,1 ± 0,2	9,4 ± 0,2
Potas w surowicy [mmol/l]	4,2 ± 0,1	4,2 ± 0,1	4,1 ± 0,1	4,1 ± 0,1
Kreatynina w surowicy [μ mol/l]	103 ± 4	107 ± 7	118 ± 6†	114 ± 8†
Cholesterol w surowicy [mmol/l]	5,0 ± 0,1	5,4 ± 0,2	5,0 ± 0,1	5,2 ± 0,2
Cholesterol frakcji HDL w surowicy [mmol/l]	1,6 ± 0,1	1,6 ± 0,1	1,6 ± 0,1	1,7 ± 0,1
Albumina w surowicy [g/l]	37 ± 1	36 ± 1	38 ± 1	38 ± 1
Renina w surowicy [μ U/ml]*	40 ± 27	38 ± 22	112 ± 25†	141 ± 52†
ACE w surowicy [IU/l]*	16 ± 1	25 ± 1‡	16 ± 1	25 ± 1‡
Angiotensyna II w osoczu [pmol/l]*§	9 ± 1	16 ± 3	29 ± 9†	33 ± 1†
Aldosteron w surowicy [pg/ml]*	67 ± 20	97 ± 34	62 ± 19	72 ± 11
Zawartość białka w diecie (g/kg/24 h)	1,2 ± 0,1	1,0 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,0 ± 0,1
Objętość zewnątrzkomórkowa (l/1,73 m ²)	14,0 ± 0,5	14,2 ± 0,4	13,2 ± 0,4	14,0 ± 0,3
Sód w moczu (mmol/24 h)	162 ± 9	139 ± 11	158 ± 9	156 ± 8

Dane przedstawiono jako średnie ± SD; *średnie geometryczne ± SD; † $p < 0,05$ vs. wartości wyjściowych; ‡ $p < 0,05$ II vs. DD; § $n = 18$ II + 13 DD

w polimorficznym genie ACE. W obu grupach genotypowych obserwowano podobną i progresywną redukcję albuminurii. Długoterminowe obserwacje autorów rozszerzają wnioski uzyskane z ich poprzedniego, krótkiego badania [19], w którym podczas 4 miesięcy leczenia losartanem uzyskali podobne zmniejszenie wartości albuminurii i ciśnienia tętniczego.

Jak oczekiwano, stężenia ACE w grupie DD były o około 50% wyższe niż u osób z grupy II. Natomiast stężenia reniny, angiotensyny II i aldosteronu były podobne w obu grupach, co jest zbieżne z poprzednimi wynikami [27]. Ostatnio uwaga badaczy skupia się na bezpośrednim wpływie angiotensyny II na uszkodzenie nerek w nefropatii cukrzycowej; może on być częściowo niezależny od zmian hemodynamicznych [28]. Mimo że stężenia systemowe angiotensyny II są porównywalne w grupach II i DD, jej stężenia wewnątrznerkowe i naczyniowe, być może bardziej istotne, mogą być podwyższone u pacjentów DD, co sugerują badania eksperymentalne i funkcjonalne [29].

Aby uzyskać wiarygodną informację o stopniu spadku GFR u poszczególnych pacjentów z przewlekłą, postępującą chorobą nerek, należy spełnić następujące warunki [30]: metoda oznaczenia GFR musi być precyzyjna, oznaczenie to należy powtarzać co około 6 miesięcy, a czas obserwacji powinien wynosić przynajmniej 2 lata. W badaniu autorów wszystkie te warunki spełniono. Ponadto, by uzyskać odpowiednią moc statystyczną, przeprowadzono obliczenia na podstawie danych z poprzedniego projektu, w którym różnica w stopniu spadku GFR między pacjentami II i DD podczas inhibicji ACE wynosiła ponad 3 ml/min/rok [3]. W celu zwiększenia możliwości wykrycia nawet mniejszej różnicy między grupami za istotną przyjęto różnicę wynoszącą 2 ml/min/rok.

Wszystkich chorych, z wyjątkiem dwóch, przed włączeniem do badania leczono preparatami hipotensyjnymi. Między obiema grupami genotypowymi nie stwierdzono istotnych różnic w wyjściowej charakterystyce klinicznej. Wynika z tego, że rodzaj wcześniejszej terapii hipotensyjnej nie wpływa na potencjalne różnice w progresji uszkodzenia nerek między pacjentami II i DD.

Równolegle do grup homozygotycznych autorzy badali także, według analogicznego protokołu, 15 chorych na cukrzycę typu 1 z towarzyszącą nefropatią cukrzycową, heterozygotycznych w allelu ACE/ID. Ich charakterystyka kliniczna była porównywalna do charakterystyki chorych z grup homozygotycznych. Jak oczekiwano, u pacjentów ID długotrwały wpływ nefropro-

tekcyjny losartanu był porównywalny z działaniem leku u chorych homozygotycznych. Średnie ciśnienie tętnicze obniżyło się przeciętnie do 93 ± 2 mm Hg, albuminuria zmniejszyła się o 67% (45–80%), a stopień spadku GFR wyniósł 2,8 ml/min/rok (1,6–4,1).

Naturalny przebieg nefropatii cukrzycowej cechuje się spadkiem GFR o 10–15 ml/min/rok (0–25) [31–33]. Czynniki predysponującymi do spadku GFR w przypadku tego schorzenia są wysokie wartości ciśnienia tętniczego, albuminurii, stężenia HbA_{1c} i cholesterolu [34]. W swoim badaniu autorzy wykazali także, że albuminuria i wartości ciśnienia tętniczego są czynnikami prognostycznymi tego procesu, natomiast polimorfizm genu ACE/ID — nie. W poprzednim badaniu obserwacyjnym, prowadzonym przez ten zespół, z udziałem 301 chorych na cukrzycę typu 1 ze współistniejącą nefropatią cukrzycową przez okres 7 lat [3–14], średni stopień spadku GFR wynosił 4,0 ml/min/rok, a MABP — 102 mm Hg [34]. W obecnym badaniu, ze średnim okresem obserwacji wynoszącym 3 lata, roczny spadek GFR oceniono średnio na 3,2 ml/min/rok (2,2–4,7), uwzględniając całą grupę z MABP równym 95 ± 1 mm Hg przy blokadzie receptora AT1. W wyżej opisanym badaniu obserwacyjnym MABP wynoszące 95 mm Hg wiąże się ze stopniem spadku GFR zbliżonym do 2,5 ml/min/rok. W największym badaniu interwencyjnym, obejmującym chorych na cukrzycę typu 1 z towarzyszącą nefropatią cukrzycową [35], średni stopień spadku klirensu kreatyniny był istotnie wyższy niż w niniejszej pracy; wynosił 8,0 ml/min/rok w grupie przyjmującej kaptopril i 10,8 ml/min/rok u pacjentów leczonych innymi lekami hipotensyjnymi niż inhibitory ACE i blokery kanałów wapniowych. W ostatnio prowadzonych 2 dużych badaniach klinicznych z udziałem chorych na cukrzycę typu 2, RENAAL i IDNT, oceniano długoterminowe działanie nefroprotektoryjne blokady receptora AT1 w nefropatii cukrzycowej [36, 37]. Blokada ta, w porównaniu z konwencjonalnym leczeniem hipotensyjnym, w obu obserwacjach wykazała korzystny wpływ nefroprotektoryjny dzięki zmniejszeniu stopnia spadku GFR. W badaniu RENAAL szacowany stopień tego spadku wyniósł 4,4 ml/min/rok w grupie otrzymującej losartan w porównaniu z 5,2 ml/min/rok w grupie chorych leczonych konwencjonalnie ($p = 0,01$). Podobnie w badaniu IDNT stopień spadku GFR oznaczanego przez klirens kreatyniny wyniósł 5,5 ml/min/rok w grupie leczonej irbesartanem, a 6,5 ml/min/rok u osób poddanych terapii konwencjonalnej. Wyniki obu badań nie zawierają informacji na temat ewentualnego wpływu polimorfizmu ACE/ID na oceniane parametry.

Farmakogenetyka jest nauką zajmującą się badaniem wpływu różnic genetycznych na reakcję organizmu chorego na interwencję farmakologiczną. Odkrycie polimorfizmu genetycznego u pacjentów z podobnymi fenotypami choroby może prowadzić do identyfikacji grup osób, które mogą odnosić większe korzyści z leczenia danym preparatem. Trwające 2 lata randomizowane badanie *Euclid Study Group* objęło 530 chorych na cukrzycę typu 1 z prawidłowymi wartościami ciśnienia tętniczego oraz z normą mikroalbuminurią. W tej próbie prospektywnie wykazano, że inhibicja ACE miała większy wpływ na zahamowanie postępu mikroalbuminurii u pacjentów z genotypem II niż u osób z genotypem DD [4]. Poprzednio zespół autorów niniejszego artykułu badał związek między polimorfizmem genu ACE/ID a początkową odpowiedzią na inhibicję ACE, polegającą na zmniejszeniu wydalania białka z moczem [15]. Wyniki badań autorów świadczyły o tym, że u chorych na cukrzycę typu 1 z towarzyszącą nefropatią cukrzycową, homozygotycznych II, w większym stopniu obniża się albuminuria w wyniku leczenia inhibitorem ACE niż u osób homozygotycznych w allelu DD. Może to sugerować lepsze długoterminowe rokowanie dla pacjentów z genotypem II [38].

Kilka prospektywnych badań klinicznych poświęconych cukrzycowej chorobie nerek wykazało, że allel D wiąże się ze zwiększonym ryzykiem utraty funkcji nerek [3, 5, 7, 8, 10]. Dane te potwierdzono także w ostatnich badaniach morfologicznych dotyczących wczesnej glomerulopatii cukrzycowej [39, 40]. Jedna z prób prowadzonych przez zespół autorów, obejmująca chorych na cukrzycę typu 1 ze współistniejącą nefropatią cukrzycową, wykazała początkowo przyspieszony oraz stały spadek GFR podczas leczenia inhibitorem ACE u pacjentów homozygotycznych DD w porównaniu z homozygotami II [3]. Sprzeczne wyniki uzyskano w badaniach nad nefropatią niezwiązaną z cukrzycą [11, 12]. Zastosowanie farmakogenetyki w praktycznej terapii chorych może doprowadzić do wyodrębnienia populacji osób, które można leczyć optymalnie. Działanie nefroprotektoryjne blokady receptora AT1 potwierdzone w badaniu autorów przyniesie określone korzyści, jeśli wyeliminuje się wpływ polimorfizmu genu ACE/ID. U pacjentów DD można bowiem doprowadzić do specyficznego zablokowania układu renina-angiotensyna przez blokadę receptora AT1, w porównaniu z niepełną inhibicją tego układu podczas stosowania inhibitora ACE. Sugestie selektywnej terapii nefroprotektoryjnej wymagają oczywiście dalszych prospektywnych badań; idealne byłoby randomizowane, prospektywne badanie porównujące inhibitor ACE i bloker AT1

u osób II i DD. Należałoby także rozważyć podjęcie badań farmakogenetycznych dotyczących polimorficznych form innych genów.

Podsumowując, celem badania autorów była ocena długoterminowego wpływu leczenia losartanem w dawce 100 mg na dobę na funkcje nerek u chorych na cukrzycę typu 1 z towarzyszącym nadciśnieniem tętniczym i nefropatią cukrzycową, o genotypie homozygotycznym II i DD genu ACE. W przeciwieństwie do poprzednich badań obserwacyjnych, poświęconych stosowaniu inhibitorów ACE, długotrwałą terapię losartanem w wypadku obu grup genotypowych cechowało podobne korzystne działanie nefroprotektoryjne.

Podziękowania

Koszty badania pokryły *Danish Diabetes Association* i grant naukowy z firmy Merck & Co.

Dziękujemy za współpracę Birgitte V. Hansen, Berit R. Jensen, Ulli Smidt oraz Inge-Lise Rossing.

PIŚMIENNICTWO

1. Tarnow L., Glud C., Parving H.-H.: Diabetic nephropathy and the insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1998; 13: 1125–1130.
2. Yoshida H., Mitarai T., Kawamura T., Kitajima T., Miyazaki Y., Nagasawa R., Kawaguchi Y., Kubo H., Ichikawa I., Sakai O.: Role of the deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene in the progression and therapeutic responsiveness of IgA nephropathy. *J. Clin. Invest.* 1995; 96: 2162–2169.
3. Parving H.-H., Jacobsen P., Tarnow L., Rossing P., Lecerf L., Poirier O., Cambien F.: Effect of deletion polymorphism of angiotensin converting enzyme gene on progression of diabetic nephropathy during inhibition of angiotensin converting enzyme: observational follow up study. *BMJ* 1996; 313: 591–594.
4. Penno G., Chaturvedi N., Talmud P.J., Cotroneo P., Manto A., Nannipieri M., Luong L.-A., Fuller J.H., the Euclid Study Group: Effect of angiotensin-converting enzyme (ACE) gene polymorphism on progression of renal disease and the influence of ACE inhibition in IDDM patients: findings from the EUCLID randomized controlled trial. *Diabetes* 1998; 47: 1507–1511.
5. Vleming L.J., van der Pijl J.W., Lemkes H.H.P.J., Westendorp R.G.J., Maassen J.A., Daha M.R., van Es L.A., van Kooten C.: The DD genotype of the ACE gene polymorphism is associated with progression of diabetic nephropathy to end stage renal failure in IDDM. *Clin. Nephrol.* 1999; 51: 133–140.
6. Björck S., Blohmé G., Sylvén C., Mulec H.: Deletion insertion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and progression of diabetic nephropathy. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1997; 12: 67–70.
7. Schmidt S., Ritz E.: Angiotensin I converting enzyme gene polymorphism and diabetic nephropathy in type II diabetes. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1997; 12: 37–41.
8. Schmidt S., Strojek K., Grzeszczak W., Bergis K., Ritz E.: Excess of DD homozygotes in haemodialysed patients with type II diabetes. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1997; 12: 427–429.
9. Harden P.N., Geddes C., Rowe P.A., McIlroy J.H., Boulton-Jones M., Rogers S., Junor B.J.R., Briggs J.D., Connell J.M.C., Jardine A.G.: Polymorphisms in angiotensin-converting-enzyme gene and progression of IgA nephropathy. *Lancet* 1995; 345: 1540–1542.

10. Yoshida H., Kuriyama S., Atsumi Y., Tomonari H., Mitarai T., Hamaguchi A., Kubo H., Kawaguchi Y., Kon V., Matsuoka K., Ichikawa I., Sakai O.: Angiotensin I converting enzyme gene polymorphism in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Kidney Int.* 1996; 50: 657–664.
11. van Essen G.G., Rensma P.L., de Zeeuw D., Sluiter W.J., Scheffer H., Apperloo A.J., de Jong P.E.: Association between angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and failure of renoprotective therapy. *Lancet* 1996; 347: 94–95.
12. Perna A., Ruggenenti P., Testa A., Spoto B., Benini R., Misefari V., Remuzzi G., Zoccali C.: ACE genotype and ACE inhibitors induced renoprotection in chronic proteinuric nephropathies. *Kidney Int.* 2000; 57: 274–281.
13. Tarnow L., Cambien F., Rossing P., Nielsen F.S., Hansen B.V., Lecerf L., Poirier O., Danilov S., Parving H.-H.: Lack of relationship between an insertion/deletion polymorphism in the angiotensin-I-converting enzyme gene and diabetic nephropathy and proliferative retinopathy in IDDM patients. *Diabetes* 1995; 44: 489–494.
14. Marre M., Bernadet P., Gallois Y., Savagner F., Guyenne T.-T., Hallab M., Cambien F., Passa P.H., Alhenc-Gelas F.: Relationships between angiotensin I converting enzyme gene polymorphism, plasma levels, and diabetic retinal and renal complications. *Diabetes* 1994; 43: 384–388.
15. Jacobsen P., Rossing K., Rossing P., Tarnow L., Mallet C., Poirier O., Cambien F., Parving H.-H.: Angiotensin converting enzyme gene polymorphism and ACE inhibition in diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 1998; 53: 1002–1006.
16. Haas M., Yilmaz N., Schmidt A., Neyer U., Arneitz K., Stummvoll H.K., Wallner M., Auinger M., Arias I., Schneider B., Mayer G.: Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism determines the antiproteinuric and systemic hemodynamic effect of enalapril in patients with proteinuric renal disease: Austrian Study Group of the Effects of Enalapril Treatment in Proteinuric Renal Disease. *Kidney Blood Press. Res.* 1998; 21: 66–69.
17. van der Kleij F.G., Navis G.J., Gansevoort R.T., Heeg J.E., Scheffer H., de Zeeuw D., de Jong P.E.: ACE polymorphism does not determine short-term renal response to ACE inhibition in proteinuric patients. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1997; 12 (supl. 2): 42–46.
18. Parving H.-H., Andersen A.R., Smidt U.M., Svendsen P.A.: Early aggressive antihypertensive treatment reduces rate of decline in kidney function in diabetic nephropathy. *Lancet* 1983; i: 1175–1179.
19. Andersen S., Tarnow L., Cambien F., Rossing P., Juhl T.R., Deinum J., Parving H.H.: Renoprotective effects of losartan in diabetic nephropathy: interaction with ACE insertion/deletion genotype? *Kidney Int.* 2002; 62: 192–198.
20. Rigat B., Hubert C., Corvol P., Soubrier F.: PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP 1) (dipeptidyl-carboxy peptidase 1). *Nucleic Acids Res.* 1992; 20: 1433–1433.
21. Fogarty D.G., Maxwell A.P., Doherty C.C., Hughes A.E., Nevin N.C.: Ace gene typing. *Lancet* 1994; 343: 851.
22. Bröchner-Mortensen J., Rödbro P.: Selection of routine method for determination of glomerular filtration rate in adult patients. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1976; 36: 35–45.
23. Bröchner-Mortensen J.: A simple method for the determination of glomerular filtration rate. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1972; 30: 271–274.
24. Maroni B.J., Steinman T.I., Mitch W.E.: A method for estimating nitrogen intake of patients with chronic renal failure. *Kidney Int.* 1985; 27: 58–65.
25. Kappelgaard A.M., Nielsen M.D., Giese J.: Measurement of angiotensin II in human plasma: technical modifications and practical experience. *Clin. Chim. Acta* 1976; 67: 299–306.
26. Deinum J., Derckx F.H.M., Schalekamp M.A.: Improved immunoradiometric assay for plasma renin. *Clin. Chem.* 1999; 45: 847–854.
27. Lachurie M.-L., Azizi M., Guyenne T.-T., Alhenc-Gelas F., Menard J.: Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism has no influence on the circulating renin-angiotensin-aldosterone system or blood pressure in normotensive subjects. *Circulation* 1995; 91: 2933–2942.
28. Wolf G., Ziyadeh F.N.: The role of angiotensin II in diabetic nephropathy: emphasis on nonhemodynamic mechanisms. *Am. J. Kidney Dis.* 1997; 29: 153–163.
29. Chang P., Kroon L., van Dijk M., Danser A.: The role of genetic heterogeneity in angiotensin-converting enzyme in physiological responses to angiotensins and bradykinin in human forearm vascular bed. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1998; 9: 1705A.
30. Levey A.S., Gassman J., Hall P.M., Walker W.G.: Assessing the progression of renal disease in clinical studies: effects of duration of follow-up and regression to the mean. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1991; 1: 1087–1094.
31. Mogensen C.E.: Progression of nephropathy in long-term diabetics with proteinuria and effect of initial antihypertensive treatment. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1976; 36: 383–388.
32. Parving H.-H., Smidt U.M., Friisberg B., Bonnevie-Nielsen V., Andersen A.R.: A prospective study of glomerular filtration rate and arterial blood pressure in insulin-dependent diabetics with diabetic nephropathy. *Diabetologia* 1981; 20: 457–461.
33. Viberti G.C., Bilous R.W., Mackintosh D., Keen H.: Monitoring glomerular function in diabetic nephropathy. *Am. J. Med.* 1983; 74: 256–264.
34. Hovind P., Rossing P., Tarnow L., Smidt U.M., Parving H.H.: Progression of diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 2001; 59: 702–709.
35. Lewis E., Hunsicker L., Bain R., Rhoads R.: The effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition on diabetic nephropathy. *N. Engl. J. Med.* 1993; 329: 1456–1462.
36. Lewis E.J., Hunsicker L.G., Clarke W.R., Berl T., Pohl M.A., Lewis J.B., Ritz E., Atkins R.C., Rohde R., Raz I.: Renoprotective effect of the angiotensin-receptor antagonist irbesartan in patients with nephropathy due to type 2 diabetes. *N. Engl. J. Med.* 2001; 345: 851–860.
37. Brenner B.M., Cooper M.E., de Zeeuw D., Keane W.F., Mitch W.E., Parving H.H., Remuzzi G., Snapinn S.M., Zhang Z., Shahinfar S.: Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *N. Engl. J. Med.* 2001; 345: 861–869.
38. Rossing P., Hommel E., Smidt U.M., Parving H.-H.: Reduction in albuminuria predicts diminished progression in diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 1994; 45 (supl. 45): S145–S149.
39. Rudberg S., Rasmussen L.M., Bangstad H.-J., Österby R.: Influence of insertion/deletion polymorphism in the ACE-I gene on the progression of diabetic glomerulopathy in type 1 diabetic patients with microalbuminuria. *Diabetes Care* 2000; 23: 544–548.
40. Solini A., Vestra M.D., Saller A., Nosadini R., Crepaldi G., Fioretto P.: The angiotensin-converting enzyme DD genotype is associated with glomerulopathy lesions in type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 251–255.