

Streszczenie w języku polskim

Wstęp

Badania epidemiologiczne dotyczące otyłości i nadwagi pokazują, iż jest to znaczący i wciąż rosnący problem osiągający status globalnej pandemii. Przyczynami wzrastającej liczby osób z otyłością są czynniki środowiskowe (nabyte), genetyczne (wrodzone), psychologiczne, endokrynologiczne i metaboliczne. Obecnie uważa się, że rola dziedziczenia predyspozycji do występowania nadmiernej masy ciała ma charakter wielogenowy. Szacuje się, że czynniki genetyczne odpowiadają za około 30–40% ryzyka wystąpienia otyłości. Pomimo szeroko zakrojonych badań nad genetycznymi podstawami otyłości dotychczas nie zidentyfikowano głównego genu/mutacji, który stanowiłby bezpośrednią przyczynę rozwoju tej choroby. Jako jeden z czynników wymienia się między innymi polimorfizm genu desaturazy sterooido-CoA (SCD). Jednakże zarówno funkcja tego genu, jak i związany z nim mechanizm indukcji otyłości jest obecnie nieznany. Podkreśla się też rolę pojedynczych polimorfizmów nukleotydowych DNA (SNP) w tym wpływ SNP'ów genu SCD. Dlatego też celem pracy było oszacowanie zmienności genu MT-ATP6 mtDNA oraz stopnia spokrewnienia u pacjentów z różnym stanem odżywienia (określanym na podstawie BMI) oraz fenotypami rozmieszczenia brzusznej tkanki tłuszczowej (TOFI, FOTI). Kolejnym celem było określenie występowania różnych alleli w SNP rs7849 genu SCD u osób z otyłością i prawidłową masą ciała oraz wpływu obecności allelu C na parametry gospodarki węglowodanowej i lipidowej w ustroju badanych osób.

Material i metody

Badanie obserwacyjne przeprowadzono wśród 116 osób (77 kobiet i 39 mężczyzn). Protokół badania został zatwierdzony przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego (nr APK.002.407.2020, R-I-002/647/2019 oraz APK.002.39.2021). Wszyscy uczestnicy wyrazili świadomą, pisemną zgodę na udział w badaniu przed jego rozpoczęciem. Uczestnikom wykonano badania antropometryczne (masa ciała, wzrost, oznaczono BMI kg/m^2). Pacjentów podzielono na grupę badaną (46 kobiet i 29 mężczyzn z BMI=30.0–39.9 kg/m^2) i kontrolną (31 kobiet i 10 mężczyzn z BMI=18.5–24.9 kg/m^2). Wszystkim osobom, biorącym udział w badaniu przeprowadzono analizę składu ciała metodą bioimpedancji elektrycznej oraz ocenę pola tkanki tłuszczowej podskórnej i trzewnej przy użyciu aparatu BioScan 920-2. Na tej podstawie otrzymano następujące parametry: całkowitą zawartość tkanki tłuszczowej (kg, %) oraz zawartość tkanki pozatłuszczowej (kg). Ponadto oszacowano pole tkanki tłuszczowej podskórnej (cm^2) i trzewnej (cm^2) na wysokości pępka oraz ustalono stosunek VAT/SAT. Celem oznaczenia fenotypu rozmieszczenia brzusznej tkanki tłuszczowej (podskórnej oraz

trzewnej) TOFI (ang. thin outside fat inside) oraz FOTI (ang. fat inside thin outside) został wykorzystany wskaźnik VAT/SAT Ratio (ang. visceral adipose tissue/subcutaneous adipose tissue). Aby zbadać sekwencje genów został pobrany wymaz z jamy ustnej – z policzków oraz podniebienia – przy pomocy sterylnych zestawów wymazowych. Wyizolowane DNA użyto do reakcji PCR, a następnie powielone fragmenty zostały zsekwencjonowane metodą Sangera. Sekwencje przyrównano do siebie oraz poddano analizom bioinformatycznym. Następnie wykonano badania biochemiczne z krwi na czczo (stężenia glukozy, insuliny, cholesterolu całkowitego, frakcji LDL i HDL cholesterolu oraz triglicerydów) w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Wyniki dotyczące składu ciała, oznaczeń biochemicznych krwi wykonano z użyciem programu Statistica 13.3..

Wyniki

Badana grupa liczyła 75 osób (46 kobiet i 29 mężczyzn) z otyłością, natomiast grupa kontrolna stanowiła 41 osób (31 kobiet i 10 mężczyzn) z prawidłową masą ciała. Po odczytaniu sekwencji genu mtDNA MT-ATP6 ze wszystkich próbek wyróżniono 52 haplotypy. Najczęstszym był haplotyp H1, który był reprezentowany u 42 uczestników (29 z otyłością i 13 z prawidłową masą ciała). Drugim najczęstszym haplotypem był H6, reprezentowany u 13 uczestników (8 z otyłością i 5 z prawidłową masą ciała). Liczba haplotypów mtDNA MT-ATP6 w obu grupach była zróżnicowana, a każda grupa posiadała haplotypy charakterystyczne tylko dla niej. W grupie badanej były to haplotypy H3-H5, H7-H13 i H15-H31. W grupie kontrolnej były to haplotypy H33-H52. Wartości wariancji genetycznej F_{st} obliczone z obserwowanej zmienności MT-ATP6 nie były wysokie (0,0046), co w skali Wrighta wskazuje na bardzo niską zmienność genetyczną między grupami. Pomimo niskich wartości F_{st} , w sieci haplotypowej obserwowano nawet do 102 mutacji, a głównymi haplotypami były wcześniej wspomniane H1 i H6. W obu grupach większość pacjentów reprezentowało fenotyp TOFI, zdecydowanie mniej reprezentowało fenotyp FOTI.

Wśród pacjentów wykryto SNP rs7849 w genie SCD. Heterozygotyczność obserwowana dla homozygot TT wyniosła 0,681034483, a spodziewana 0,68489893, dla heterozygot TC heterozygotyczność obserwowana wyniosła 0,293103448, a spodziewana 0,299643282, natomiast dla homozygot CC heterozygotyczność obserwowana wyniosła 0,034482759 a spodziewana 0,032773484. We wszystkich przypadkach różnice nie były istotne statystycznie, zatem badana grupa pacjentów była w równowadze Hardy'ego-Winberg'a. Pacjentów heterozygotycznych – TC – zaobserwowano w obu grupach, natomiast pacjenci homozygotyczni CC występowali tylko w grupie kontrolnej (z prawidłową masą ciała). Zarówno wśród heterozygot jak i homozygot CC stwierdzono niższe mediany wskaźnika

HOMA-IR oraz niższe mediany stężeń: glukozy, insuliny, cholesterolu całkowitego, frakcji LDL cholesterolu i triglicerydów, a mediana stężeń frakcji HDL cholesterolu była istotnie wyższa.

Wnioski

Stwierdzono, że mimo małej zmienności genu MT-ATP6 u ludzi w zależności od stanu odżywienia (BMI), grupa badana charakteryzowała się większą różnorodnością haplotypową. Wśród wszystkich uczestników badania nie znaleziono zależności genetycznych w genie MT-ATP6 dla fenotypów TOFI i FOTI. Wśród badanych pacjentów obserwowano najczęściej homozygoty TT SNP rs7849 genu SCD (81,3% osób z otyłością oraz 44% osób z prawidłową masą ciała), najmniejszy odsetek stanowiły osoby homozygotyczne CC (7% osób z prawidłową masą ciała), a wariant heterozygotyczny obserwowany był u 18,7% osób z otyłością oraz 49% osób z prawidłową masą ciała. Wśród fenotypów TOFI i FOTI homozygoty TT stanowiły 80% osób z otyłością i 40% osób z prawidłową masą ciała, homozygoty CC obserwowane były tylko u 7,3% osób z prawidłową masą ciała, a heterozygoty u 17,4% osób z otyłością i 35,6% osób z prawidłową masą ciała. Pacjenci bez allelu C charakteryzowali się wyższymi medianami stężeń parametrów gospodarki węglowodanowej i niższą medianą stężeń cholesterolu HDL. Wśród pacjentów z grupy kontrolnej istotnie wyższe były parametry gospodarki węglowodanowej.