

Streszczenie

Dystrybucja tkanki tłuszczowej odgrywa ważną rolę w określeniu ryzyka licznych zaburzeń metabolicznych. Osoby z prawidłową masą ciała, ale z nadmiernym gromadzeniem tkanki tłuszczowej wokół brzucha (ang. MONW), mają potencjalnie wyższe ryzyko rozwoju powikłań metabolicznych, które w konsekwencji mogą prowadzić do chorób sercowo-naczyniowych i cukrzycy typu 2. Choroby sercowo-naczyniowe są główną przyczyną zachorowań i zgonów w akromegalii.

Ostatnie badania wykazały związek polimorfizmów genu *FTO* z otyłością i zwiększonym ryzykiem chorób sercowo-naczyniowych, również niezależnie od BMI. Częstość występowania alleli ryzyka (MAFs) genu *FTO* jest zmienna i zależy od przynależności etnicznej, stąd wpływ tego genu na badane parametry może być różny.

Cel pracy

Rozprawa doktorska oparta jest o cykl publikacji, których celem było:

1. Optymalizacja (w oparciu o technikę minisekwencjonowania) metody jednoczesnej identyfikacji polimorfizmów genu *FTO* (rs9939609, rs9930506, rs1421085 i rs1121980); identyfikacja wybranych polimorfizmów w badanych grupach osób.
2. Ocena częstości występowania alleli ryzyka i struktury haplotypowej polimorfizmów genu *FTO* (rs9939609, rs9930506, rs1421085 i rs1121980); określenie związku tego genu z nadmiernym gromadzeniem trzewnej tkanki tłuszczowej u osób z prawidłową masą ciała.
3. Ocena częstości występowania alleli ryzyka wybranych polimorfizmów genu *FTO* (rs9939609 i rs9930506); określenie związku tego genu z BMI oraz wybranymi parametrami metabolicznymi w grupie osób z akromegalią.

Materiały i metody

Genotypowanie wybranych wariantów genu *FTO* przeprowadzono w dwóch grupach: w grupie 854 młodych osób z prawidłową masą ciała (614 kobiet i 240 mężczyzn) oraz w grupie 51 pacjentów z akromegalią (37 kobiet i 14 mężczyzn). Z pobranej od pacjentów krwi obwodowej wyizolowano genomowe DNA. Następnie za pomocą techniki PCR i minisekwencjonowania przeprowadzono identyfikację polimorfizmów genu *FTO*. Reakcję prowadzono w systemie multipleksowym z wykorzystaniem zaprojektowanych starterów, dobierając optymalne warunki reakcji. Analizę statystyczną przeprowadzono

z wykorzystaniem danych dotyczących pomiarów densytometrycznych, antropometrycznych i badań biochemicznych.

Wyniki

1. Wyniki badań w grupie osób z prawidłową masą ciała
 - a) częstość występowania alleli ryzyka polimorfizmów rs1121980, rs1421085, rs9930506 i rs9939609 genu *FTO* wynosiła odpowiednio 0,45, 0,44, 0,44 i 0,43 i okazała się być niższa w porównaniu do populacji europejskiej;
 - b) w oparciu o analizę rozkładu haplotypów wykazano występowanie w ponad 95% dwóch odmiennych struktur haplotypowych genu *FTO*: TCGA (złożony z alleli ryzyka) oraz CTAT (złożony z alleli ochraniających, ang. *protective*);
 - c) analiza wariancji parametrów ilości i dystrybucji tkanki tłuszczowej nie wykazała istotnych statystycznie różnic pomiędzy trzema parami haplotypów: CTAT/CTAT, CTAT/TCGA i TCGA/TCGA.
2. Wyniki badań w grupie osób chorych na akromegalię
 - a) częstość występowania alleli ryzyka polimorfizmów rs9939609 i rs9930506 genu *FTO* wynosiła odpowiednio 0,47 i 0,53 i okazała się być wyższa w porównaniu do populacji europejskiej;
 - b) allele ryzyka były związane ze zmniejszonym stężeniem HDL-C. Homozygotyczni nosiciele alleli ryzyka mieli co najmniej 1,25-krotnie niższe stężenie HDL-C w porównaniu do osób nie posiadających alleli ryzyka.

Wnioski

1. Polska populacja osób z prawidłową masą ciała charakteryzuje się występowaniem dwóch odmiennych struktur haplotypowych genu *FTO*: TCGA (*risk haplotype*) oraz CTAT (*protective haplotype*). Nie wykazano związku badanych polimorfizmów genu *FTO* z nadmiernym gromadzeniem tłuszczu brzuszego u osób z prawidłową masą ciała. Gen *FTO* nie wpływa zatem na rozkład tkanki tłuszczowej u osób z prawidłowym BMI.
2. Istnieje związek pomiędzy nosicielstwem alleli ryzyka genu *FTO* a stężeniem cholesterolu HDL-C u pacjentów z akromegalią, co sugeruje wpływ polimorfizmów genu *FTO* na zwiększone ryzyko wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych.

Summary

The distribution of body fat plays an important role in determining the risk of numerous metabolic disorders. Metabolically obese normal weight (MONW) individuals, with body fat distribution abnormalities but normal BMI, are at potentially higher risk of developing metabolic complications, which may lead to cardiovascular diseases and type 2 diabetes. Cardiovascular diseases are the main cause of morbidity and mortality in acromegaly.

Recent examinations showed an association of polymorphisms of *FTO* gene with obesity and increased risk of CVD, also independently of BMI. However, the *Minor Allele Frequencies* (MAFs) of the *FTO* gene vary substantially among different ethnic groups and their impact differs according to ethnicity.

Objective of the study

The doctoral dissertation is based on the cycle of publication and the objectives were:

1. To optimize (base on minisequencing) the method of simultaneous identification of four *FTO* gene polymorphisms (rs9939609, rs9930506, rs1421085 and rs1121980); identification of selected polymorphisms in study groups.
2. To investigate the prevalence of MAFs and haplotype structure of *FTO* gene polymorphisms (rs9939609, rs9930506, rs1421085 and rs1121980) and to examine the influence of this gene on body fat distribution in Polish population with normal BMI.
3. To investigate the prevalence of MAFs of *FTO* gene polymorphisms (rs9939609 and rs9930506) and to examine the association of this gene with BMI and selected metabolic parameters in patients with acromegaly.

Materials and Methods

The study was carried out on two research groups: 854 young, normal-weight individuals (614 female and 240 male) and 51 patients with acromegaly (37 female and 14 male). Studied groups were genotyped for selected *FTO* gene variants. Genomic DNA was isolated from peripheral blood leukocytes. Simultaneous identification of *FTO* SNPs was conducted using PCR and minisequencing method with a pair of designed specific primers, at an optimal reaction condition. The statistical analysis was performed based on data regarding densitometry, anthropometric and biochemical measurements.

Results

1. Results of Polish normal weight population
 - a) the MAFs of *FTO* gene of rs1121980, rs1421085, rs9930506, rs9939609 were 0.45, 0.44, 0.44, 0.43 and were found to be lower than in *HapMap* CEU population;
 - b) based on the estimates of the *FTO* haplotype frequencies, about 95% of the haplotypes were either CTAT (all protective alleles) or TCGA (all risk alleles);
 - c) the analysis of the variance in body fat distribution parameters showed no statistically significant differences between the three common haplotype pairs CTAT/CTAT, CTAT/TCGA and TCGA/TCGA.
2. Results of group with acromegaly
 - a) the MAFs of *FTO* gene of rs9939609 and rs9930506 were 0.47 and 0.53 and were found to be higher than in *HapMap* CEU population;
 - b) the risk alleles were associated with decreased HDL-C concentration. Homozygotes for risk alleles had at least 1,25-fold lower HDL-C concentration compared to carriers of protective alleles.

Conclusion

1. Polish normal weight population is characterized by two disparate haplotypes of common *FTO* gene variants: TCGA (a risk haplotype), and CTAT (a protective haplotype). No significant differences were found between fat distribution indicators in relation to haplotypes in studied group. The *FTO* gene does not affect the distribution of fat tissue among individuals with normal BMI.
2. There is an association between *FTO* gene polymorphisms and HDL-C cholesterol concentration in patients with acromegaly, suggesting that the *FTO* gene polymorphisms may be associated with higher risk of cardiovascular disease.