

## ANALÝZA FTO GENETICKÉHO VARIANTU U PACIENTOV S DIABETES MELLITUS 2. TYPU

Mačeková S., Bernasovská J., Boroňová I., Dojčáková D., Gaľová J., Biroš Hronská D., Klobušovská I., Jurčo T.

*Katedra biológie, Fakulta humanitných a prírodných vied, Prešovská univerzita v Prešove*

**Úvod** Jedným z nedávno objavených génov asociujúcich s diabetes mellitus 2. typu je gén *FTO* (fat mass and obesity associated), ktorého vplyv na vznik a rozvoj diabetu je pravdepodobne sprostredkovaný cez adipozitu.

**Cieľ** Cieľom štúdie bolo zistiť asociáciu polymorfizmu rs9939609 T > A génu *FTO* s vybranými antropometrickými parametrami u pacientov s diabetes mellitus.

**Materiál a metódy** Vyšetřili sme 255 pacientov s diagnózou diabetes mellitus 2. typu. Genotypizáciu sme vykonali podľa štandardného protokolu s použitím prístroja 7 500 Fast Real-Time PCR System.

**Výsledky** Genotypovo-fenotypovou analýzou sa zistili štatisticky významné rozdiely medzi genotypmi a telesnou hmotnosťou ( $p = 0,002$ ), BMI indexom ( $p = 0,025$ ), ako aj obvodom pása ( $p = 0,005$ ). Skúmané parametre s každou pribúdajúcou rizikovou alelou asociujú s rastúcim trendom ich priemerných hodnôt.

**Záver** Zo zistení môžeme konštatovať, že prítomnosť mutovanej alely skúmaného polymorfizmu rs9939609 génu *FTO* predznamenáva vyššie riziko obezity u diabetických pacientov.

**Príučové slová:** obezita, DM 2. typu, gén, polymorfizmus, asociácia

### Úvod a cieľ

Diabetes mellitus je definovaný ako metabolické ochorenie mnohopočetnej etiológie, patogeneticky charakterizované chronickou hyperglykémiou, ktorá vedie k defektom inzulínovej sekrécie a funkcie [18]. Diabetes mellitus 2. typu je najrozšírenejšou formou diabetu, typicky charakterizovaný poklesom pankreatickej sekrécie inzulínu v kombinácii s inzulínovou rezistenciou. S inzulínovou rezistenciou je spätá obezita a zvýšené množstvo viscerálneho tuku. To predstavuje jeden z najzávažnejších rizikových faktorov pre vznik DM 2. typu [14]. Asociácia medzi zvýšenou hmotnosťou a rizikom diabetu 2. typu je lineárna. Celosvetovo sa obezita podieľa z 58 % na vývoji diabetu [17].

Obezita je všeobecne považovaná za ochorenie súvisiace so životným štýlom, avšak ide o komplexné multifaktorové ochorenie, v patogenéze ktorého významnú úlohu zohráva vzájomná súhra rôznych environmentálnych faktorov na vhodnom genetickom pozadí. Vplyv genetických faktorov na rozvoj obezity je častokrát podceňovaný a to aj napriek tomu, že sa odhaduje na 30 až 70 % [10, 11].

Jedným z ostatých identifikovaných génov obezity je gén *FTO* (fat mass and obesity associated). Celogenómová asociačná štúdia vykonaná Fraylingom et al. (2007) pre vyhľadávanie génov pre diabetes mellitus 2. typu, odhalila asociáciu s ochorením, ktorá však bola sprostredkovaná cez adipozitu. Gén *FTO* predstavuje riziko vzniku diabetes mellitus 2. typu práve prostredníctvom silnej asociácie jeho polymorfizmov s obezitou. Aj keď biologická funkcia génu *FTO* a jeho produktu ešte nie je celkom objasnená, génový profil u ľudí odhaľuje, že ľudský gén pre *FTO* sa exprimuje v mnohých tkanivách vrátane pankreatických ostrovčekov, tukového tkaniva a svalov [1, 3, 4, 16], pričom najvýraznejšia expresia sa zistila v hypotalame, v oblasti mozgu zodpovednej za reguláciu energie

tickej homeostázy [5]. Tieto zistenia naznačujú, že gén pre *FTO* by sa mohol podieľať na centrálnej regulácii energetickej homeostázy a hrať kľúčovú úlohu pri rozvoji obezity.

Gén pre *FTO* je viac ako 400 kb dlhý, má 9 exónov, 8 intrónov a nachádza sa na chromozóme 16q12.2 [8]. U ľudí najsilnejšie asociujú s obezitou génové varianty v prvom intróne génu [3, 4, 13], tak ako polymorfizmus rs9939609. Cieľom tejto štúdie bolo pomocou štatistickej analýzy testovať a vyhodnotiť genotypovo-fenotypový vzťah vybraného polymorfizmu rs9939609 génu *FTO* s antropometrickými parametrami u pacientov s diabetes mellitus 2. typu.

### Materiál a metodika vyšetření

Predmetom výskumu bolo 255 pacientov s klinickou diagnózou diabetes mellitus 2. typu (priemerný vek 60,09 ± 7,77 rokov). Výber pacientov sa realizoval v spolupráci s endokrinologickými ambulanciami v Prešovskom kraji. Pri výbere pacientov sa rešpektovali všetky etické princípy vyžadované pre priebeh výskumu a každý pacient podpísal informovaný súhlas. Antropometrické parametre sme merali podľa štandardných metód. U pacientov bola po odobratí vzorky periférnej krvi použitím bežných komerčných kitov extrahovaná DNA a následne bola použitím TaqMan SNP sond (Applied Biosystems, Foster City, CA) podľa štandardného protokolu vykonaná genotypová analýza vybraného polymorfizmu rs9939609. Fluorescencia bola detegovaná pomocou prístroja 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems). Pri štatistickej analýze dát boli použité metódy deskriptívnej štatistiky, Pearsonov  $\chi^2$ -kvadrátový test a ANOVA test. K štatistickému testovaniu sa použil program PASW pre Windows verzia 17.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA), pričom kritériom pre štatistickú významnosť bola hodnota  $p < 0,05$ .

## Výsledky

Deskriptívna charakteristika analyzovaného súboru pacientov s diabetes mellitus 2. typu je uvedená v tabuľke 1.

**Table 1 Characteristics of patients with type 2 DM**

Parameter	Study group (N = 255) Mean ± SD
Age (years)	60.09 ± 7.77
Height (cm)	168.02 ± 8.23
Weight (kg)	96.83 ± 15.06
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	34.34 ± 5.09
WC (cm)	113.04 ± 11.33
HC (cm)	120.71 ± 12.15

Data are presented as mean ± standard deviation (SD), N-number of individuals, DM-diabetes mellitus, BMI-body mass index, WC-waist circumference, HC-hip circumference

V distribúcii genotypov analyzovaného polymorfizmu rs9939609 génu *FTO* sa nezistili štatisticky významné rozdiely v odchýlke od Hardy-Weinbergovej rovnováhy ( $p = 0,605$ ). Distribúcia genotypových a alelových frekvencií analyzovaného polymorfizmu v súbore diabetických pacientov je znázornená v tabuľke 2. U 255 pacientoch sme detegovali 73 (28,6 %) jedincov homozygotných pre protektívnu alelu T, 123 (48,2 %) jedincov s genotypom AT (heterozygot) a 59 (23,2 %) jedincov homozygotných pre mutantnú alelu A, pričom jej frekvencia bola 47,3 %.

V tabuľke 3 je uvedená základná charakteristika analyzovaného súboru podľa genotypov. Z tabuľky vyplýva, že existujú štatisticky významné rozdiely medzi jednotlivými genotypmi, okrem telesnej hmotnosti ( $p = 0,002$ ) aj v indexe telesnej hmotnosti (BMI indexe ( $p = 0,025$ )) a v obvode pása ( $p = 0,005$ ). Jedinci s mutantným genotypom (AA) mali v priemere o 6,93 kg vyššiu telesnú hmotnosť, v porovnaní s jedincami s prítomnou len jednou rizikovou alelou (heterozygot AT) a až o 8,51 kg vyššiu hmotnosť ako jedinci bez prítomnosti rizikovej alely (homozygot TT). Priemerná hodnota BMI indexu u jedincov s rizikovým genotypom AA bola  $35,83 \pm 5,09$  kg/m<sup>2</sup>, kým u jedincov s protektívnym genotypom TT sme zistili index BMI nižší o 2,35 kg/m<sup>2</sup>. Signifikantný bol aj rozdiel medzi jednotlivými genotypmi v priemerných hodnotách obvodu pása (Tab. 3). Priemerná hodnota obvodu pásu bola u jedincov s rizikovým genotypom AA v porovnaní s jedincami homozygotnými pre protektívnu alelu T vyššia o 6,23 cm.

**Table 2 Allele and genotype frequencies of rs9939609 polymorphism of FTO gene in diabetic patients**

Polymorphism rs9939609	Study group N (%)
Homozygotes AA	59 (23.2 %)
Heterozygotes AT	123 (48.2 %)
Homozygotes TT	73 (28.6 %)
HWE	$p = 0.605$
Frequency of mutant allele A	47.3 %
Frequency of protective allele T	52.7 %

DM-diabetes mellitus, N-number of individuals, HWE-Hardy-Weinberg equilibrium

**Table 3 Comparison of parameters between the different genotypes of rs9939609 polymorphism for the FTO gene in diabetic patients**

Parameters	Genotype (mean ± SD)			p Value
	TT	AT	AA	
Total N	73	123	59	
Age (years)	60.99 ± 6.84	59.60 ± 8.38	60.02 ± 7.53	0.483
Height (cm)	167.97 ± 7.32	167.42 ± 8.81	169.34 ± 8.01	0.340
Weight (kg)	94.10 ± 10.01	95.68 ± 16.71	102.61 ± 15.35	0.002
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	33.48 ± 4.26	34.13 ± 5.41	35.83 ± 5.09	0.025
WC (cm)	110.74 ± 8.62	112.53 ± 12.36	116.97 ± 11.19	0.005
HC (cm)	122.53 ± 12.15	117.88 ± 11.18	124.83 ± 13.41	0.064

Data are presented as mean ± standard deviation (SD), N-number of individuals, BMI-body mass index, WC-waist circumference, HC-hip circumference

## Diskusia

Obezita je závažný zdravotný problém a značná časť obéznych ľudí zomiera na ochorenia spôsobené komplikáciami zo zvýšenej hmotnosti [2]. Obezita ako chronické ochorenie multifaktorového pôvodu, vyplýva zo vzájomnej interakcie environmentálnych a genetických faktorov a predstavuje významný rizikový faktor pre rozvoj mnohých chronických ochorení vrátane diabetes mellitus 2. typu. Asociáciu variant pre gén *FTO* s rizikom vyššej hmotnosti až obezity ako prvý zistili Frayling et al. (2007). Vykonaním celogenómovej asociáčnej štúdie zameranej na vyhľadávanie génov s vnímavosťou k dia-

betes mellitus 2. typu zistili silnú a vysoko významnú asociáciu medzi skupinou bežných jednonukleotidových polymorfizmov (SNP) v prvom intróne génu *FTO* a ochorením. Skríningom viac než 490 000 SNP zistili, že bežné varianty v *FTO* regióne silne asociujú k diabetu 2. typu, avšak, keď sa analýzou polymorfizmu rs9939609 u 3757 pacientov s diabetom a 5346 kontrol zamerali na index BMI, zistili významnú asociáciu rizikovej alely A s vyšším indexom BMI. Asociácia pre gén *FTO* k diabetes bola pravdepodobne sprostredkovaná obezitou, čo zdôrazňuje patogénne prepojenie medzi obezitou a diabetom 2. typu. Neskôr sa objavuje mnoho ďalších štúdií s rôznym dizajnom a rôznym počtom jedincov, u ktorých sa násled-

ne potvrdila asociácia s jednonukleotidovými polymorfizmami pre gén *FTO*, nielen s hodnotami v BMI indexe, ale tiež s ďalšími parametrami telesného zloženia, ktoré sa používajú pri hodnotení obezity [1, 3, 6, 7, 9, 12, 13, 15]. Cieľom štúdie bolo analyzovať asociáciu medzi bežným variantom rs9939609 a obezitou u diabetických pacientov na Slovensku. Zistili sme významné rozdiely medzi jednotlivými genotypmi polymorfizmu rs9939609 génu *FTO* v telesnej hmotnosti ( $p = 0,002$ ), indexe BMI ( $p = 0,025$ ), ako aj v obvode pásu ( $p = 0,005$ ). U všetkých parametrov sme zistili rastúci trend priemerných hodnôt s každou pribúdajúcou rizikovou alelou. Na základe zistených skutočností môžeme konštatovať, že rs9939609 polymorfizmus pre gén *FTO* asociuje s telesnou hmotnosťou, indexom BMI a obvodom pásu. Z toho vyplýva, že prítomnosť mutantnej alely v skúmanom polymorfizme predstavuje u diabetických pacientov vyššie riziko obezity.

### Záver

Genotypovo-fenotypová analýza odhalila, že prítomnosť mutantnej alely A polymorfizmu rs9939609 génu *FTO* predstavuje u diabetických pacientov zvýšené riziko obezity. Poznanie rizikového genotypu a následné použitie genetických poznatkov v klinickej praxi, by mohlo vylepšiť prístup k prevencii a liečbe obezity a tak napomôcť znížiť riziko vzniku mnohých kardiometabolických komplikácií, vrátane diabetes mellitus 2. typu.

### Literatúra

1. Andreasen, C.H. et al.: Low Physical Activity Accentuates the Effect of the FTO rs9939609 Polymorphism on Body Fat Accumulation. *Diabetes*. 57, 2008, 95-101.
2. Bell, C.G. et al.: The genetics of human obesity. *Nature*. 6, 2005, 221-34.
3. Dina, C. et al.: Variation in FTO contributes to childhood obesity and severe adult obesity. *Nature Genet*. 39, 2007, 724-26.
4. Frayling, T.M. et al.: A Common Variant in the FTO Gene Is Associated with Body Mass Index and Predisposes to Childhood and Adult Obesity. *Science*. 316, (5826), 2007, 889-94.
5. Gerken, T. et al.: The Obesity-Associated FTO Gene Encodes a 2-Oxoglutarate-Dependent Nucleic Acid Demethylase. *Science*. 318, 2007, 1469-72.
6. González-Sánchez, J.L. et al.: Variant rs9939609 in the FTO gene is associated with obesity in an adult population from Spain. *Clin Endocrinol*. 70, 2009, (3):390-93.
7. Hotta, K. et al.: Variations in the FTO gene are associated with severe obesity in the Japanese. *J Hum Genet*. 53, 2008, 546-53.
8. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=FTO>
9. Hubacek, J.A. et al.: The FTO Gene and Obesity in a Large Eastern European Population Sample: The HAPIEE. *Obesity Journal*. 16, 2008, (12):2764-66.
10. Loos, R.J.: Recent progress in the genetics of common obesity. *Br J Clin Pharmacol*. 68, 2009, (6): 811-29.
11. Rao, K.R. et al.: Genetic & epigenetic approach to human obesity. 140, 2014, (5):589-603.
12. Rees, S. et al.: An FTO variant is associated with Type 2 diabetes in South Asian populations after accounting for body mass index and waist circumference. *Diabetic Medicine*. 28, 2011, (6):673-80.
13. Scuteri, A. et al.: Genome-wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are associated with obesity-related traits. *PLoS. Genet*. 3, 2007, e115.
14. Svačina, Š., Owen K.: Syndrom inzulinové rezistencie. Praha: Triton. 2003, 182.
15. Villalobos-Comparán, M. et al.: The FTO gene is associated with adulthood obesity in the Mexican population. *Obesity*. (Silver Spring), 16, 2008, (10): 2296-301.
16. Wåhlén, K. et al.: The common rs9939609 gene variant of the fat mass- and obesity-associated gene FTO is related to fat cell lipolysis. *Journal of Lipid Research*. 49, 2008, 607-11.
17. World Health Organisation: Data on chronic diseases and their risk factors for all WHO Member States. Global InfoBase, 2002.
18. World Health Organization: Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Report of WHO Consultation, Geneva. 1999, 1-66.

### ANALYSIS OF *FTO* GENETIC VARIATION IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Mačeková S., Bernasovská J., Boroňová I., Dojčáková D., Gal'ová J., Biroš Hronská D., Klobušovská I., Jurčo T.

**Introduction** One of the recently discovered genes associated with type 2 diabetes is *FTO* (fat mass and obesity associated) gene, its effect on formation and development of diabetes is likely mediated through adiposity.

**Objective** The aim of this study was to examine the association of the rs9939609 polymorphisms T >A in *FTO* gene with selected anthropometric parameters in diabetic patients.

**Materials and Methods** The study group comprised 255 patients with type 2 diabetes mellitus. Genotyping was performed according to standard protocol using the 7 500 Fast Real-Time PCR System.

**Results** Genotype-phenotype analysis revealed statistically significant differences between the genotypes in body weight ( $P = 0.002$ ), the body mass index ( $P = 0.025$ ) and in the waist circumference ( $P = 0.005$ ). For all these parameters it has been found a growing trend in the mean values with each additional risk allele.

**Conclusion** Based on our results, we can conclude that the presence of mutant allele of the analyzed rs9939609 polymorphism in FTO gene is inflicting higher risk of obesity in diabetic patients.

**Key words:** obesity, DM 2.type, gene, polymorphism, association

---

### Pod'akovanie

Táto štúdia bola podporená z projektu ITMS 26220120041, APVV-0716-10 a APVV-0644-12.

Soňa Mačeková  
Katedra biológie  
Fakulta humanitných a prírodných vied  
Prešovská univerzita v Prešove  
Ul. 17. novembra 1  
081 16 Prešov  
E-mail: [macekovasona@gmail.com](mailto:macekovasona@gmail.com)