

Endokrynologia Pediatriczna Pediatric Endocrinology

Związek polimorfizmu rs9939609 genu FTO ze wskaźnikiem masy ciała u dzieci z cukrzycą typu 1

Polymorphism rs9939609 of FTO Gene is Associated with Body Mass Index in Children with Type 1 Diabetes

¹Włodzimierz Łuczyński, ²Grzegorz Zalewski, ³Anna Ramotowska, ³Agnieszka Szypowska,
⁴Agnieszka Szadkowska, ⁴Wojciech Młynarski, ⁵Miron Chumiecki, ⁵Przemysław Jarosz-Chobot,
⁶Agnieszka Brandt, ⁶Małgorzata Myśliwiec, ⁷Joanna Chrzanowska, ⁷Anna Noczyńska,
⁸Anita Horodnicka-Józwa, ⁸Mieczysław Walczak, ⁹Jadwiga Peczyńska, ¹⁰Bernadetta Blecharczyk,
¹⁰Magdalena Deluga, ¹⁰Aneta Łukasik, ¹⁰Sylwia Piekut, ¹⁰Ewelina Niewadzi, ¹⁰Paulina Zduniuk,
¹⁰Paulina Świrnydo, ¹⁰Agnieszka Mazur, ¹¹Oksana Kowalczuk, ¹Artur Bossowski

¹Klinika Pediatrii, Endokrynologii, Diabetologii z Pododdziałem Kardiologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, ²Zakład Patomorfologii Lekarskiej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, ³Klinika Pediatrii Uniwersytetu Medycznego w Warszawie, ⁴Klinika Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, ⁵Katedra i Klinika Pediatrii, Endokrynologii i Diabetologii Dziecięcej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, ⁶Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii, Onkologii i Endokrynologii Uniwersytetu Medycznego w Gdańsku, ⁷Katedra i Klinika Endokrynologii i Diabetologii Wieku Rozwojowego Akademii Medycznej we Wrocławiu, ⁸Klinika Pediatrii, Endokrynologii, Diabetologii, Chorób Metabolicznych i Kardiologii Wieku Rozwojowego Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie, ⁹NZOZ Specjalistyczny Ośrodek Internistyczno-Diabetologiczny w Białymstoku, ¹⁰Studenckie Koło Naukowe przy Klinice Pediatrii, Endokrynologii, Diabetologii z Pododdziałem Kardiologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, ¹¹Zakład Klinicznej Biologii Molekularnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

Adres do korespondencji: Włodzimierz Łuczyński, Klinika Pediatrii, Endokrynologii, Diabetologii z Pododdziałem Kardiologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku 15-274 Białystok, ul. Waszyngtona 17, tel./fax. (85) 7450-730, e-mail: w.luczynski@wp.pl

Słowa kluczowe: gen FTO, otyłość, cukrzyca

Key words: FTO gene, obesity, diabetes

Praca wykonana w ramach współpracy ośrodków Sekcji Pediatricznej Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego (PolPeDia).

STRESZCZENIE/ABSTRACT

Wstęp. Dzięki intensywnym badaniom genomu ludzkiego wykazano związek pomiędzy polimorfizmem wybranych genów, w tym genu FTO (*fat mass and obesity-associated gene*), a obecnością czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego, w tym otyłości. Czynniki te występują bardzo często wśród dzieci, młodzieży i młodych dorosłych z cukrzycą typu 1. **Za cel** opracowania przyjęto próbę określenia związku pomiędzy polimorfizmem rs9939609 genu FTO a wartościami wskaźnika masy ciała i cechami związanymi z otyłością u dzieci z rozpoznaniem cukrzycy typu 1. **Material.** Do badania zakwalifikowano 553 dzieci z rozpoznaniem cukrzycy typu 1 oraz 405 dzieci bez cukrzycy (grupa odniesienia). **Metoda.** Polimorfizm FTO rs9939609 oznaczono u wszystkich dzieci metodą dyskryminacji

alleli na aparacie ABI 7900HT Fast Real-Time PCR System. **Wyniki.** 1. Wśród dzieci z cukrzycą typu 1 w porównaniu do dzieci bez cukrzycy zanotowano wysoki odsetek nadwagi/otyłości oraz cech zespołu metabolicznego. 2. Wykazano związek polimorfizmu genu FTO ze wskaźnikiem masy ciała oraz stężeniem triacylogliceroli zarówno u dzieci z cukrzycą, jak i w grupie odniesienia, natomiast związek z obwodem talii oraz wartościami ciśnienia skurczowego krwi obserwowano wyłącznie u dzieci bez cukrzycy. **Wniosek.** Po raz pierwszy w literaturze zaobserwowaliśmy związek polimorfizmu rs9939609 genu FTO ze wskaźnikiem masy ciała u dzieci z cukrzycą typu 1. Być może uzyskane przez nas wyniki pozwolą na identyfikację grup pacjentów zagrożonych zwiększonym ryzykiem rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego wśród młodych pacjentów z cukrzycą. Endokrynol. Ped. 10/2011;4(37):27-36.

Introduction. Due to intensive research of human genome a relation between polymorphism of chosen genes including FTO (fat mass and obesity-associated) gene and the presence of risk factors for developing cardiovascular diseases has been found. These risk factors are frequent among children, adolescents and young adults with type 1 diabetes. **The aim** of the present study was the attempt to find the association of rs9939609 FTO polymorphism and the values of body mass index and other obesity-related features in children with type 1 diabetes mellitus. **Material.** Five hundred and thirty three children with type 1 diabetes and 405 children with excluded diabetes (controls) were enrolled into the study. **Method.** FTO rs9939609 polymorphism was assessed with allele discrimination method with the use of ABI 7900HT Fast Real-Time PCR System. **Results.** We found higher percentages of overweight/obesity and features of metabolic syndrome among children with type 1 diabetes compared to healthy controls. We also noted the association between FTO polymorphism and body mass index and triglycerides concentration in both diabetic and control children. However the relation between FTO polymorphism and waist circumference and systolic blood pressure was noted only in non-diabetic subjects. **Conclusion.** For the first time we observed the association of FTO polymorphism and body mass index in children with type 1 diabetes. The results could be used in identification of patient with the risk for developing cardiovascular diseases among young persons with diabetes. *Pediatr. Endocrinol.* 10/2011;4(37):27-36.

Wstęp

Epidemia otyłości u dzieci stała się w ostatnich dekadach istotnym problemem medycznym i społecznym (www.who.int). Jej uwarunkowania środowiskowe i genetyczne, a także metody diagnostyczne i terapeutyczne stosowane w tym schorzeniu są przedmiotem zainteresowania wielu badaczy [1, 2]. Do rozpoznawania nadwagi i otyłości u dzieci powszechnie używa się wskaźnika masy ciała [3]. Jego standaryzowane wartości oraz przedziały centylowe dla dzieci polskich zostały niedawno zaktualizowane [4]. Poza takimi czynnikami, jak nieprawidłowa dieta oraz niska aktywność fizyczna, w patogenezie otyłości istotną rolę odgrywają uwarunkowania genetyczne. Jednak skala ich wpływu nie jest znana [5]. Dzięki intensywnym badaniom genomu ludzkiego wykazano związek pomiędzy polimorfizmem wybranych genów a obecnością czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego, w tym otyłości [6]. Jednym z największych sukcesów w tej dziedzinie jest odkrycie wpływu niektórych wariantów pierwszego intronu genu FTO (*fat mass and obesity associated gene*) na występowanie otyłości zarówno u dorosłych, jak i u dzieci [7]. Dorosłych nosicieli obu alleli A w miejscu rs9939609 charakteryzują: wyższa o 3 kilogramy masa ciała oraz 1:67 wyższe ryzyko otyłości w porównaniu do

nosicieli obu alleli T [7]. W niektórych grupach pacjentów wpływ ten jest silniejszy niż w ogólnej populacji [8]. Funkcja białka kodowanego przez gen FTO nie jest znana, najbardziej prawdopodobne jest jego działanie na ośrodkowy układ nerwowy [9]. Mechanizm związku polimorfizmu genu FTO z wartościami masy ciała oraz wskaźnika masy ciała również nie jest wyjaśniony, ale najprawdopodobniej obejmuje przyjmowanie większej ilości kalorii poprzez wybieranie przez nosicieli alleli A potraw wysokokalorycznych z dużą zawartością tłuszczu oraz upośledzone uczucie sytości [10–12].

Cukrzyca typu 1 (T1D) jest jedną z najbardziej rozpowszechnionych chorób przewlekłych w populacji wieku rozwojowego, a częstość zachorowań wśród dzieci rośnie [13]. Podstawowe składowe leczenia T1D to insulinoterapia, dieta, wysiłek fizyczny, samokontrola oraz edukacja. Nowoczesna terapia funkcjonalna z użyciem osobistej pompy insulinowej, wprowadzona powszechnie w ostatnich latach, prowadzi do poprawy wyrównania metabolicznego, mniejszej ilości incydentów hipoglikemii oraz poprawy jakości życia pacjentów [14]. Jednak leczenie insuliną może skutkować nadmiernym przyrostem masy ciała (mechanizm tego zjawiska opisano w [15]). Otyłość oraz inne czynniki ryzyka rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego występują bardzo często wśród dzieci, młodzieży

i młodych dorosłych z cukrzycą typu 1 [16–18]. Zgodnie z danymi z literatury należy zakładać, że większość dzieci z otyłością będzie również cechowała się nadmierną masą ciała w wieku dorosłym [19]. Istnieje zatem potrzeba identyfikacji pacjentów z grup ryzyka zagrożonych tą patologią w celu podjęcia prób interwencji terapeutycznej. Należy pamiętać, że schorzenia układu sercowo-naczyniowego są główną przyczyną chorobowości i śmiertelności wśród dorosłych pacjentów z cukrzycą.

Zgodnie z naszą wiedzą nie ma danych dotyczących wpływu podłoża genetycznego na pojawianie się otyłości oraz innych czynników ryzyka rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego w grupie pacjentów z cukrzycą typu 1. Zatem za cel niniejszego opracowania przyjęto próbę określenia związku pomiędzy polimorfizmem rs9939609 genu FTO a wartościami wskaźnika masy ciała i cechami związanymi z otyłością u dzieci z rozpoznaniem cukrzycy typu 1. Określenie takiego związku mogłoby w przyszłości pomóc identyfikować pacjentów zagrożonych otyłością oraz jej konsekwencjami.

Pacjenci

Badanie jest częścią projektu FTO-DIAB, którego celem jest wyjaśnienie podłoża genetycznego obecności czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego u dzieci z cukrzycą typu 1. Projekt jest koordynowany przez Klinikę Pediatrii, Endokrynologii, Diabetologii z Pododdziałem Kardiologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, a realizowany przez ośrodki diabetologii dziecięcej w całej Polsce. Na realizację badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. W każdym przypadku rodzice/opiekunowie dziecka wyrażali zgodę na udział w badaniu. Projekt zarejestrowano na www.clinicaltrials.gov pod numerem NCT01279161. Do wstępnej analizy w okresie od listopada 2009 do grudnia 2010 r. zakwalifikowano 553 dzieci z rozpoznaniem cukrzycy typu 1 oraz 405 dzieci bez cukrzycy (grupa odniesienia). Kryteria włączenia do grupy badanej obejmowały: rozpoznanie cukrzycy typu 1 (wg Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego łącznie z oceną przeciwciał), wiek 4–18 lat oraz leczenie przez co najmniej rok ustalonym schematem insulinoterapii (funkcjonalna insulinoterapia z zastosowaniem penów lub osobistej pompy insulinowej). Kryteria włączenia do grupy odniesienia stanowiły: wiek 4–18 lat, zgoda rodziców/opiekunów, wykluczenie cukrzycy (wywiad, badanie przedmiotowe,

glikemia w osoczu na czczo). Najczęstszymi powodami hospitalizacji dzieci z grupy odniesienia były: szmer nad sercem i zaburzenia rytmu serca, wady serca nieistotne hemodynamicznie, nadwaga/otyłość prosta oraz nadciśnienie tętnicze. Z badań (zarówno w grupie badanej, jak i odniesienia) wykluczono dzieci z chorobami chromosomalnymi, celiakią, zaburzeniami czynności tarczycy, nadnerczy, gonad, zaburzeniami odżywiania (w tym *anorexia nervosa* i bulimia) oraz innymi chorobami mogącymi wpływać na masę ciała; pacjenci nie przyjmowali żadnych leków (poza insuliną w grupie badanej).

Metody

W grupach badanej i odniesienia zostały ocenione następujące parametry:

a. dane antropometryczne: wiek, płeć, wzrost, masa ciała, wskaźnik masy ciała (BMI) i standaryzowany wskaźnik masy ciała (SDS-BMI) oraz obwód talii;

b. badania dodatkowe: ciśnienie krwi (średnia z trzech pomiarów), profil lipidowy tj. cholesterol całkowity, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triacyloglicerole w surowicy.

U dzieci z cukrzycą do oceny przyrostu masy ciała jako wyjściowy przyjęto wskaźnik masy ciała z okresu 3–6 miesięcy od rozpoznania zgodnie z danymi literatury oraz własną analizą wstępną [20]. Przyrost wskaźnika masy ciała w trakcie terapii insuliną był oceniany na podstawie parametru delta SDS-BMI, który wyliczono z różnicy bieżącej wartości SDS-BMI i wyjściowego SDS-BMI.

Uzyskane dane odnoszono do norm dla dzieci polskich w tym siatek centylowych zgodnych z płcią, wiekiem i wzrostem badanych. Nadwaga została zdefiniowana jako SDS-BMI > 1 (tj. > 85 centyla), otyłość – SDS-BMI > 2 (tj. > 95 centyla) [4]. Obecność otyłości centralnej określano na podstawie obwodu talii powyżej 90 centyla [21]. Nadciśnienie tętnicze rozpoznawano, gdy wartości ciśnienia skurczowego/rozkurczowego przekraczały 95 centyl [22]. Wyniki badań laboratoryjnych były odnoszone do zaleceń Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego z 2010 r. W grupie dzieci z cukrzycą dodatkowo zanotowano informację o zastosowanym preparacie insuliny (insuliny ludzkie o krótkim i pośrednim czasie działania, analogi krótko- i długodziałające).

Genotypowanie

Do genotypowania pobierano 0,5 cm³ krwi obwodowej przy okazji badań laboratoryjnych koniecznych do diagnostyki pacjenta. Polimorfizm FTO rs9939609 oznaczono u wszystkich dzieci metodą dyskryminacji alleli na aparacie ABI 7900HT Fast Real-Time PCR System z oprogramowaniem SDS 2.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Wariant A/T badano korzystając z walidowanych, komercyjnie dostępnych sond zawartych w TaqMan SNP Genotyping Assay (Assay ID C_30090620_10, Applied Biosystem) znakowanych barwnikiem na końcu 5' (odpowiednio VIC/FAM). Materiał DNA wyizolowano z pełnej krwi żyłnej przy użyciu TaqMan Sample-to-SNP Kit (Applied Biosystems) zgodnie z instrukcją producenta. Reakcję przeprowadzono na płytkach 384-dołkowych w objętości 5 µL, mieszanina zawierała 1 µL materiału DNA, 2,5 µL TaqMan GTXpress Master Mix (Applied Biosystems), 0,25 µL TaqMan Genotyping Assay Mix 20x (Applied Biosystems) oraz 1,25 µL wody wolnej od DN-az. Zastosowano następujący profil termiczny reakcji: denaturacja wstępna 95°C przez 10 min.; 40 cykli następujących kolejno: denaturacja 92°C przez 15 s; hybrydyzacja/elongacja 60°C przez 60 s. Celem kontroli kontaminacji na każdej płytce reakcyjnej wprowadzono próby negatywne zawierające wodę zamiast materiału DNA. Zanotowano 99,3% prawidłowych reakcji.

Analiza statystyczna

Częstość alleli i genotypów w badanej populacji została ustalona poprzez zliczanie genotypów. Następnie otrzymany rozkład genotypów w całej badanej populacji oraz osobno w grupie pacjentów z cukrzycą i grupie kontrolnej został porównany z dystrybucją przewidywaną zgodnie z prawem Hardy'ego–Weinberga (test χ^2 Pearsona). Zmienne ciągle porównywano używając nieparametrycznego testu rank Wilcozona w przypadku dwóch grup badanych lub testu Kruskalla–Wallisa w przypadku więcej niż dwóch porównywanych grup. Do porównania zmiennych dyskretnych posłużył test χ^2 Pearsona. Ryzyko względne oszacowano wyliczając iloraz szans (OR) z 95% przedziałem ufności (95% CI) przy użyciu bezwarunkowej analizy regresji logistycznej. Hipoteza, że polimorfizmy są związane z parametrami charakteryzującymi pacjentów, była testowana zakładając różne relacje między allelami (kodominujący i recesywny model genetyczny). Zmienne w skali interwałowej przedstawiono

jako średnia arytmetyczna \pm odchylenie standardowe. Dwustronne $p < 0,05$ wyznaczało poziom istotności statystycznej. Wszystkie obliczenia dokonano przy użyciu programu R-project (wersja 2.11.1, 2010; The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Rysunek wykonano w programie Excel for Windows.

Wyniki

Nadwaga, otyłość oraz cechy zespołu metabolicznego występują często u dzieci z cukrzycą typu 1

Dzieci z grupy badanej nie różniły się od dzieci z grupy odniesienia w zakresie rozkładu wieku (mediana 14 lat), płci oraz wzrostu ($p > 0,05$). Zgodnie z oczekiwaniami oraz danymi z poprzednich analiz tej grupy pacjentów nadwaga, otyłość oraz cechy zespołu metabolicznego były częstsze u dzieci z cukrzycą w stosunku do dzieci z grupy odniesienia. Odpowiednie wartości dotyczące dzieci z cukrzycą i bez cukrzycy wynosiły: dla nadwagi 83 (15,0%) vs 33 (8,1%) dzieci, dla otyłości, 56 (10,1%) vs 2 (0,5%) dzieci, dla otyłości centralnej 98 (17,7%) vs 30 (7,4%) pacjentów. W grupie dzieci z cukrzycą typu 1 wzrost wartości standaryzowanego wskaźnika masy ciała 3–6 mies. od rozpoznania schorzenia do momentu bieżącego badania był istotny statystycznie: mediana SDS-BMI 0,12 vs 0,58 ($p < 0,0001$). Zaburzenia gospodarki lipidowej również były częstsze w grupie badanej w porównaniu z grupą odniesienia – odpowiednio: całkowite stężenie cholesterolu 230 tj. 41,5% vs 85 tj. 20,9%, obniżone stężenie frakcji HDL-cholesterolu 98 tj. 17,7% vs 46 tj. 11,3%, podwyższone stężenie frakcji LDL-cholesterolu 178 tj. 32,1% vs 81 tj. 20,0%, podwyższone stężenie triacylogliceroli 40 tj. 7,2% vs 15 tj. 3,7%. Cechy nadciśnienia tętniczego zanotowano u 71 tj. 12,8% dzieci z cukrzycą oraz 35 tj. 8,6% dzieci bez cukrzycy. Kryteria zespołu metabolicznego spełniało 26 tj. 4,7% dzieci z cukrzycą (3 kryteria poza hiperglikemią) oraz 5 tj. 1,2% dzieci z grupy odniesienia. Nie zanotowano istotnych różnic w opisanych parametrach pomiędzy dziećmi leczonymi z użyciem poszczególnych preparatów insuliny (aspart vs lispro vs insuliny ludzkie krótko-działające oraz detemir vs glargine vs insuliny ludzkie o pośrednim czasie działania).

Polimorfizm rs9939609 genu FTO jest związany ze wskaźnikiem masy ciała u dzieci bez cukrzycy

Wśród dzieci z grupy odniesienia częstość allelu A wynosiła 54%, a allelu T – 46%. Rozkład genotypów przedstawiał się w sposób następujący: AA – 126 tj. 31,1%, AT – 186 tj. 45,9% oraz TT – 93 tj. 22,9% (rozkład zgodny z prawem Hardy’ego –Wienberga). Polimorfizm genu FTO był związany ze standaryzowanym wskaźnikiem masy ciała, SDS-BMI ($\chi^2 = 9$, $df = 2$, $p = 0,011$). U dzieci z genotypem TT średnie SDS-BMI wynosiło 0,69 i nie różniło się od wartości tego parametru u heterozygot AT (średnia 0,69, $p = 0,99$). Natomiast u dzieci z genotypem AA SDS-BMI było istotnie statystycznie wyższe i wynosiło 1,32, $p = 0,019$. Przy założeniu recesywnego modelu dziedziczenia nosiciele genotypu AA charakteryzowało wyższe ryzyko otyłości (OR = 1,75; 95% CI 1,09–2,82, $p = 0,02$) w stosunku do nosicieli genotypów AT i TT.

Polimorfizm FTO był również związany z obwodem talii (przy założeniu recesywnego modelu dziedziczenia 79,9 vs 73,4, $p = 0,003$, odpowiednio dla AA i AT+TT), wartościami skurczowego ciśnienia tętniczego (przy założeniu recesywnego modelu dziedziczenia 122 vs 114,6 mmHg, $p = 0,008$, odpowiednio dla AA i AT+TT) oraz stężeniem triacylogliceroli (przy założeniu recesywnego modelu dziedziczenia 112,6 vs 96,4, $p = 0,04$, odpowiednio dla AA i AT+TT). Nie obserwowano natomiast asocjacji z ciśnieniem tętniczym rozkurczowym (przy założeniu recesywnego modelu dziedziczenia 73,4 vs 73,2, $p = 0,87$, odpowiednio dla AA i AT+TT), całkowitym stężeniem cholesterolu (177,1 vs 170,4, $p = 0,41$), oraz frakcji HDL- (52,5 vs 52,6, $p = 0,64$) i LDL-cholesterolu (106,1 vs 99,5, $p = 0,62$).

Polimorfizm rs9939609 genu FTO jest związany ze wskaźnikiem masy ciała u dzieci z cukrzycą typu 1

Obecność rzadszego w badanej populacji (553 dzieci) allelu A wynosiła 48%, a allelu T – 52%, natomiast rozkład genotypów przedstawiał się w sposób następujący: AA – 135 tj. 24%, AT – 261 tj. 47%, TT – 157 tj. 28%. Obserwowany rozkład genotypów był zgodny z wyznaczonym na podstawie częstości allelicznych według prawa Hardy’ego –Wienberga ($\chi^2 = 1,65$, $p = 0,2$).

Polimorfizm genu FTO był związany ze standaryzowanym wskaźnikiem masy ciała, SDS-BMI ($\chi^2 = 9$, $df = 2$, $p = 0,039$). U dzieci z genotypem TT średnie SDS-BMI wynosiło 0,36 i nie różniło

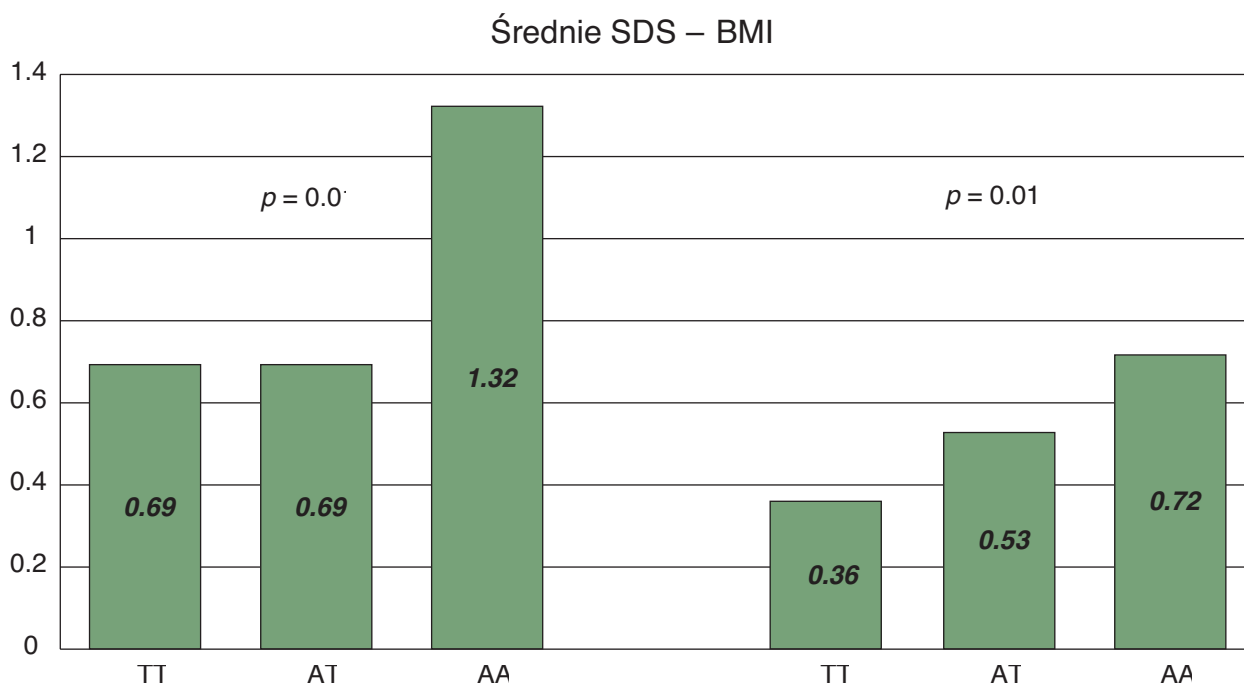
się istotnie od wartości u heterozygot AT (średnia 0,53, $p = 0,16$). Natomiast u dzieci z genotypem AA było istotnie statystycznie wyższe i wynosiło 0,72, $p = 0,011$. Związek pomiędzy polimorfizmem rs9939609 genu FTO a standaryzowanym wskaźnikiem masy ciała w grupach badanej i odniesienia przedstawia rycina 1. Przy założeniu recesywnego modelu dziedziczenia (homozygoty TT i heterozygoty AT vs homozygoty AA) nosiciele genotypu AA nie wykazywali się wyższym ryzykiem otyłości (OR = 1,19 (95% CI 0,66–2,14), $p = 0,57$) w porównaniu do nosicieli co najmniej jednego allelu T. Nie obserwowano istotnych statystycznie różnic w dystrybucji genotypów pomiędzy dziećmi z prawidłową masą ciała a dziećmi z nadwagą ($p > 0,05$).

Polimorfizm w tej grupie pacjentów był również związany ze stężeniem triacylogliceroli (przy założeniu recesywnego modelu dziedziczenia 95,4 vs 83,0, $p = 0,035$, odpowiednio dla AA i AT+TT). Nie obserwowano natomiast asocjacji z obwodem talii (70,5 vs 69,2, $p = 0,27$), ciśnieniem tętniczym skurczowym (111,9 vs 111,6, $p = 0,87$) i rozkurczowym (przy założeniu recesywnego modelu dziedziczenia 70,0 vs 70,5, $p = 0,63$ odpowiednio dla AA i AT+TT), całkowitym stężeniem cholesterolu (178,2 vs 175,2, $p = 0,45$) oraz frakcji HDL- (64,1 vs 65,7, $p = 0,41$) i LDL-cholesterolu (92,2 vs 91,3, $p = 0,79$). Nie wykazano związku pomiędzy genotypem FTO a zmianą wartości standaryzowanego wskaźnika masy ciała (delta SDS-BMI), który obiektywnie wskazywał przyrost masy ciała w trakcie terapii insuliną.

Dyskusja

W związku z obserwowaną istotną częstością występowania czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego wśród pacjentów z cukrzycą typu 1 poszukuje się metod identyfikacji osób zagrożonych tą patologią. Spośród wielu badanych metod rosnące znaczenie ma ocena podłoża genetycznego otyłości oraz cech z nią związanych. W naszych wstępnych badaniach po raz pierwszy w literaturze wykazaliśmy związek polimorfizmu rs9939609 genu FTO ze wskaźnikiem masy ciała u dzieci z cukrzycą typu 1. Oznacza to istnienie nowego czynnika rozwoju otyłości w tej grupie pacjentów. Być może w przyszłości genotypowanie stanie się jedną z metod oceny ryzyka rozwoju chorób cywilizacyjnych.

Częstość występowania nadwagi, otyłości oraz cech zespołu metabolicznego wśród dzieci z cukrzycą typu 1 jest różna w zależności od przyjętych



Ryc. 1. Średnie wartości standaryzowanego wskaźnika masy ciała (SDS-BMI) w grupach dzieci z cukrzycą typu 1 oraz w grupie odniesienia w zależności od genotypu rs9939609 (AA vs AT vs TT). Nosiciele genotypów AA charakteryzował wyższy wskaźnik masy ciała w porównaniu z nosicielami genotypów AT i TT ($p = 0,01$). Zwraca uwagę większa różnica w SDS-BMI pomiędzy homozygotami TT a heterozygotami AT w grupie dzieci z cukrzycą w stosunku do dzieci bez cukrzycy, różnice te jednak nie są znamienne statystycznie

Fig. 1. Mean values of standardized body mass index (SDS-BMI) in the groups of children with type 1 diabetes and control group with the relation to rs9939609 genotype (AA vs AT vs TT). AA genotype carriers were characterized by higher body mass index compared to AT and TT genotypes carriers ($p = 0.01$). Higher difference in SDS-BMI values is observed between TT and AT carriers in children with diabetes as compared to healthy subjects, but these differences are insignificant

metod badawczych. W dużym badaniu niemieckim stwierdzono obecność przynajmniej jednego czynnika ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego u ponad połowy spośród 27 tysięcy dzieci z cukrzycą typu 1 [16]. Podobnie jak w naszych badaniach, najczęściej występowały otyłość oraz podwyższone stężenie cholesterolu całkowitego. Wyższy odsetek występowania otyłości brzusznej u dzieci z cukrzycą w porównaniu z dziećmi zdrowymi zanotowała w swoich badaniach również Szadkowska i wsp. [17]. Dzieci z cukrzycą typu 1 oraz towarzyszącą nadwagą/otyłością charakteryzowało częstsze występowanie nadciśnienia, zespołu metabolicznego oraz podwyższonej aktywności aminotransferazy alaninowej [18]. W grupie dzieci z nieprawidłowym wyrównaniem metabolicznym obserwowano znacznie wyższe odsetki pacjentów ze średnimi wartościami ciśnienia krwi powyżej normy dla wieku, np. w dzień 47%, a w nocy 74% [23]. Dane te uzyskano za pomocą 24-godzinnej monitorowania ciśnienia krwi. Nowością naszej analizy jest kwalifikacja do grupy badanej wyłącznie dzieci

leczonych nowoczesnymi metodami, tj. funkcjonalną insulinoterapią z użyciem penów lub osobistej pompy insulinowej. Wśród badanych nie było dzieci leczonych metodą konwencjonalną. Jak wykazano w naszej poprzedniej pracy, dzieci leczone za pomocą pompy nie różnią się jednak od dzieci leczonych penami w zakresie występowania nadwagi i otyłości, natomiast cechują się niższym odsetkiem dyslipidemii [24]. W obecnym badaniu nie obserwowaliśmy różnic w zakresie ocenianych parametrów pomiędzy grupami dzieci leczonymi z użyciem różnych preparatów insuliny. Zalecenia w dziedzinie zapobiegania chorobom sercowo-naczyniowym u młodych pacjentów z cukrzycą typu 1 koncentrują się na monitorowaniu wskaźnika masy ciała, wyrównania metabolicznego, ciśnienia krwi, mikroalbuminurii oraz gospodarki lipidowej [25]. W zależności od uzyskanych wyników stosuje się leczenie dietetyczne i/lub farmakologiczne.

Nasze wstępne wyniki wskazują na związek polimorfizmu genu FTO ze wskaźnikiem masy ciała oraz stężeniem triacylogliceroli zarówno u dzieci

z cukrzycą, jak i w grupie odniesienia, natomiast związek z obwodem talii oraz wartościami ciśnienia skurczowego krwi wykazano wyłącznie u dzieci bez cukrzycy. Od czasu odkrycia genu FTO ukazało się wiele prac dotyczących jego wpływu na nadwagę, otyłość oraz cechy z nimi związane u dzieci i dorosłych. Z analizy piśmiennictwa wynika, że nosicielstwo jednego allelu A u dzieci prowadzi do wzrostu standaryzowanego wskaźnika masy ciała o 0,08–0,12 jednostki i wzrostu 1,27–1,35 ryzyka otyłości (przegląd piśmiennictwa [26]). Podobne zależności dotyczą obwodu talii, grubości fałdów skórnych oraz zawartości tłuszczu w organizmie [7, 27–29]. Wpływ polimorfizmu genu FTO na wartości ciśnienia tętniczego krwi obserwowano w populacji francuskojęzycznych mieszkańców Kanady [30]. Trudno jest określić wiek, w którym wpływ ten się rozpoczyna oraz okres najsilniejszego wpływu genu FTO na cechy związane z otyłością. Zdaniem niektórych związek ten ujawnia się 2 tygodnie po urodzeniu, zdaniem innych w 7. roku życia, najsilniejszy jest w wieku 20 lat, potem jego efekt najprawdopodobniej słabnie [27, 31, 32]. Brak związku genotypu z niektórymi cechami towarzyszącymi otyłości, zanotowany u naszych pacjentów, może być spowodowany niewielką liczbą badanych dzieci oraz innymi parametrami wpływającymi na stan pacjenta z cukrzycą, takimi jak: wyrównanie metaboliczne, czas trwania choroby, dieta i inne. W dalszej analizie powyższe cechy będą wzięte pod uwagę.

Leczenie insuliną można z badawczego punktu widzenia rozpatrywać jako interwencję zastosowaną u dzieci z cukrzycą. Wpływ polimorfizmu genu FTO na interwencje terapeutyczne u pacjentów z otyłością (najczęściej próba zmiany stylu życia) nie jest znany, a wyniki niewielu badań w tym zakresie są sprzeczne [33, 34]. W naszej grupie nie obserwowaliśmy różnic w zakresie przyrostu masy ciała w trakcie terapii insuliną pomiędzy nosicielami alleli A i T w miejscu rs9939609.

Do dziś nieznana jest funkcja białka kodowanego przez gen FTO. Niektóre dane wskazują na większą

częstość występowania epizodów utraty kontroli nad jedzeniem oraz upośledzone uczucie sytości u nosicieli alleli A, co może mieć istotny wpływ na masę ciała u pacjentów leczonych insuliną [12, 35]. Podobnie nosicielstwo alleli A koreluje z niską aktywnością fizyczną, co również może przyczyniać się do powstawania otyłości w cukrzycy [36]. Nie ma jednak przekonujących dowodów na obecność tych zależności u dzieci z cukrzycą.

W dostępnej literaturze nie napotkaliśmy na dane dotyczące związku podłoża genowego z pojawianiem się cech otyłości u pacjentów z cukrzycą autoimmunologiczną. Na obecnym etapie badań trudno jest określić, czy związek ten jest bardzo silny i czy ma istotne znaczenie kliniczne. W grupie kobiet z zespołem policystycznych jajników nosicielki homozygot AA w miejscu rs9939609 charakteryzowały wyższe o 1,56 kg/m² wartości BMI w porównaniu do nosicielek homozygot TT, efekt ten u zdrowych kobiet wynosił tylko 0,46 kg/m² [8]. Być może dalszych danych oraz ich interpretacji dostarczą badania na większej liczbie pacjentów zarówno z cukrzycą, jak i w grupie odniesienia. Poza genem FTO bada się efekt innych genów na rozwój czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego, niektóre z nich będą przedmiotem kolejnych opracowań naszego zespołu [37].

Wnioski

Podsumowując, wyniki naszych wstępnych badań wskazują na związek polimorfizmu rs9939609 genu FTO ze wskaźnikiem masy ciała oraz niektórymi cechami towarzyszącymi otyłości zarówno u dzieci z cukrzycą typu 1, jak i u dzieci z grupy odniesienia. Związek ten wymaga potwierdzenia na większych grupach badanych, a efekty tych odkryć mogą przyczynić się do wyodrębnienia młodych pacjentów z cukrzycą zagrożonych wystąpieniem czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego.

REFERENCES/PIŚMIENNICTWO

- [1] Małecka-Tendera E., Zachurzok-Buczyńska A., Gawlik A.: Management of childhood and adolescent obesity. *Endokrynologia Pediatria*, 2009;8, 55-62.
- [2] Barlow S.E., Committee A.T.E.: Expert Committee recommendations regarding the prevention, assessment, and treatment of child and adolescent overweight and obesity: summary report. *Pediatrics*, 2007;120, S164-192.
- [3] Cole T.J., Bellizzi M.C., Flegal K.M. et al.: Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ*, 2000;320, 1240.
- [4] Kułaga Z., Róźdżyńska A., Palczewska I. et al.: Siatki centylowe wysokości, masy ciała i wskaźnika masy ciała dzieci i młodzieży w Polsce – wyniki badania OLAF. *Standardy Medyczne Pediatria*, 2010;7, 690-700.
- [5] Hinney A., Vogel C.I.G., Hebebrand J.: From monogenic to polygenic obesity: recent advances. *Eur. Child. Adolesc. Psychiatry*, 2010;19, 297-310.
- [6] Zhao J., Bradfield J.P., Li M. et al.: The role of obesity-associated loci identified in genome-wide association studies in the determination of pediatric BMI. *Obesity*, 2009;17, 2254-2257.
- [7] Frayling T.M., Timpson N.J., Weedon M.N. et al.: A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science*, 2007;316, 889-894.
- [8] Tan S., Scherag A., Janssen O.E. et al.: Large effects on body mass index and insulin resistance of fat mass and obesity associated gene (FTO) variations in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS). *BMC MED Genet.*, 2010;11, 12.
- [9] Tews D., Fischer-Posovszky P., Wabitsch M.: FTO – friend or foe? *Horm. Metab. Res.*, 2010;42, 75-80.
- [10] Timpson N.J., Emmett P.M., Frayling T.M. et al.: The fat mass- and obesity-associated locus and dietary intake in children. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2008;88, 971-978.
- [11] Andreassen C.H., Andersen G.: Gene-environment interactions and obesity-further aspects of genomewide association studies. *Nutrition*, 2009;25, 998-1003.
- [12] Wardle J., Carnell S., Haworth C.M. et al.: Obesity associated genetic variation in FTO is associated with diminished satiety. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2008;93, 3640-3643.
- [13] Jarosz-Chobot P., Polanska J., Szadkowska A. et al.: Rapid increase in the incidence of type 1 diabetes in Polish children from 1989 to 2004, and predictions for 2010 to 2025. *Diabetologia*, 2011;54, 508-515.
- [14] Juliusson P.B., Graue M., Wentzel-Larsen T. et al.: The impact of continuous subcutaneous insulin infusion on health-related quality of life in children and adolescents with type 1 diabetes. *Acta Paediatr.*, 2006;95, 1481-1487.
- [15] Russell-Jones D., Khan R.: Insulin-associated weight gain in diabetes – causes, effects and coping strategies. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 2007;9, 799-812.
- [16] Schwab K.O., Doerfer J., Hecker W. et al.: Spectrum and prevalence of atherogenic risk factors in 27,358 children, adolescents, and young adults with type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 2006;29, 218-225.
- [17] Szadkowska A., Pietrzak I., Szławska J. et al.: Abdominal obesity, metabolic syndrome in type 1 diabetic children and adolescents. *Pediatric Endocrinol. Diabetol. Metabolism*, 2009;15, 233-239.
- [18] van Vliet M., van der Heyden J.C., Diamant M. et al.: Overweight is highly prevalent in children with type 1 diabetes and associates with cardiometabolic risk. *J. Pediatr.*, 2010;156, 923-929.
- [19] Magnussen C.H., Koskinen J., Chen W. et al.: Pediatric metabolic syndrome predicts adulthood metabolic syndrome, subclinical atherosclerosis, and type 2 diabetes mellitus but is no better than body mass index alone: the Bogalusa Heart Study and the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Circulation*, 2010;122, 1604-1611.
- [20] Newfield R.S., Cohen D., Capparelli E.V. et al.: Rapid weight gain in children soon after diagnosis of type 1 diabetes: is there room for concern? *Pediatr. Diabetes*, 2009;10, 310-315.
- [21] Kułaga Z., Litwin M., Zajączkowska M.M. et al.: Porównanie wartości obwodów talii i bioder dzieci i młodzieży polskiej w wieku 7–18 lat z wartościami referencyjnymi dla oceny ryzyka sercowo-naczyniowego – wyniki wstępne projektu badawczego OLAF (PL0080). *Standardy Medyczne*, 2008;5, 473-485.
- [22] Kułaga Z., Litwin M., Grajda A. et al.: Rozkłady wartości ciśnienia krwi w populacji referencyjnej dzieci i młodzieży w wieku szkolnym. *Standardy Medyczne Pediatria*, 2010;7, 100-111.
- [23] Szewczyk L., Bury A., Witkowski D.: Dobowy profil ciśnienia tętniczego u nastolatków z niedostatecznie wyrównaną cukrzycą typu 1. *Endokrynologia Pediatria*, 2003;2, 29-32.
- [24] Łuczyński W., Szypowska A., Głowińska-Olszewska B. et al.: Overweight, obesity and features of metabolic syndrome in children with diabetes treated with insulin pump therapy. *Eur. J. Pediatr.*, 2011;170, 891-898.
- [25] Krishnan S., Short K.R.: Prevalence and significance of cardiometabolic risk factors in children with type 1 diabetes. *J. Cardiometab. Syndr.*, 2009;4, 50-56.
- [26] Loos R.J., Bouchard C.: FTO: the first gene contributing to common forms of human obesity. *Obes. Rev.*, 2008;9, 246-250.
- [27] Hakanen M., Raitakari O.T., Lehtimäki T. et al.: FTO genotype is associated with body mass index after age of seven years but not with energy intake or leisure-time physical activity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2009;94, 1281-1287.

- [28] Cecil J.E., Tavendale R., Watt P. et al.: An obesity-associated FTO gene variant and increased energy intake in children. *N. Engl. J. Med.*, 2008;359, 2558-2566.
- [29] Scuteri A., Sanna S., Chen W.M. et al.: Genome-wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are associated with obesity-related traits. *PLoS Genetics*, 2007;3, e115.
- [30] Pausova Z., Syme C., Abrahamowicz M. et al.: A common variant of the FTO gene is associated not only with increased adiposity but also elevated blood pressure in French Canadians. *Circ. Cardiovasc. Genet.*, 2009;2, 260-269.
- [31] Hardy R., Wills A.K., Wong A. et al.: Life course variations in the associations between FTO and MC4R gene variants and body size. *Hum. Mol. Genet.*, 2010;19, 545-552.
- [32] Lopez-Bermejo A., Petry C.J., Diaz M. et al.: The association between the FTO gene and fat mass in humans develops by the post-natal age of two weeks. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2008;93, 1501-1505.
- [33] Rendo T., Molerés A., del Moral A.M.: Effects of the FTO gene on lifestyle intervention studies in children. *Obes. Facts*, 2009;2, 393-399.
- [34] Muller T.D., Hinney A., Scherag A. et al.: Fat mass and obesity associated gene (FTO): no significant association of variant rs9939609 with weight loss in lifestyle intervention and lipid metabolism markers in German obese children and adolescents. *BMC MED Genet*, 2008;9, 85.
- [35] Tanofsky-Kraff M., Han J.C., Anandalingam K. et al.: The FTO gene rs9939609 obesity-risk allele and loss of control over eating. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2009;90, 1483-1488.
- [36] Andreasen C.H., Stender-Petersen K.L., Mogensen M.S. et al.: Low physical activity accentuates the effect of the FTO rs9939609 polymorphism on body fat accumulation. *Diabetes*, 2008;57, 95-101.
- [37] Willer C.J., Speliotes E.K., Loos R.J.F. et al.: Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation. *Nat. Genet.*, 2009;41, 25-34.