

## PRACA ORYGINALNA

## Adiponektyna oraz polimorfizmy genu *apM1* a występowanie nadwagi i otyłości u pacjentów zgłaszających się do poradni ogólnej POZ

Adiponectin and polymorphism of gene *apM1* and prevalence  
of overweight/obese patients treated in general practice clinics

Mateusz Gola, Władysław Grzeszczak

## STRESZCZENIE

**CEL PRACY**

Głównym celem niniejszej pracy była ocena potencjalnego związku między wybranymi polimorfizmami genu *apM1* oraz osoczymym stężeniem adiponektyny a występowaniem nadwagi i otyłości w populacji pacjentów zgłaszających się do poradni ogólnej podstawowej opieki zdrowotnej (POZ).

**MATERIAŁ I METODY**

Badaniem objęto łącznie 510 dorosłych pacjentów (287 mężczyzn i 223 kobiety) z rejonu Polski Południowej, którzy kolejno zgłaszali się do poradni ogólnej POZ. Badanych podzielono na 3 grupy, zależnie od wartości obwodu pasa. Grupę kontrolną stanowili pacjenci z obwodem talii < 94 cm (mężczyźni) oraz < 80 cm (kobiety). U wszystkich osób oznaczano na czczo w surowicy stężenia glukozy, insuliny, cholesterolu całkowitego, frakcji HDL i LDL, triglicerydów, kreatyniny oraz adiponektyny oraz określono polimorfizmy Y111H (rs17366743), +45 T > G (rs2241766) oraz +276 G > T (rs1501299) genu adiponektyny.

**WYNIKI**

W surowicy osób z nadwagą i otyłych stwierdzono istotnie statystycznie wyższe stężenia glukozy i insuliny w stosunku do osób z grupy kontrolnej ( $p < 0,001$ ). Stężenia adiponektyny w surowicy pacjentów otyłych były istotnie niższe niż u osób z nadwagą ( $p < 0,001$ ) oraz bez nadwagi ( $p < 0,001$ ). Zarówno u osób otyłych, jak i z nadwagą stwierdzono znamienne wyższe wartości wskaźnika insulinoooporności HOMA-IR ( $p$  dla korelacji pomiędzy każdą z grup < 0,01). Wykazano, że stężenie adiponektyny we krwi maleje wraz ze wzrostem obwodu talii ( $p < 0,001$ ). Podobnie silną korelację odnotowano między poziomem adiponektyny a wartoś-

Katedra Chorób Wewnętrznych,  
Diabetologii i Nefrologii  
Wydziału Lekarskiego  
z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym  
w Zabrze  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego  
w Katowicach

**ADRES****DO KORESPONDENCJI:**

Prof. dr hab. n. med. Władysław Grzeszczak  
Katedra Chorób Wewnętrznych,  
Diabetologii i Nefrologii  
Wydziału Lekarskiego  
z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym  
w Zabrze  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego  
w Katowicach  
ul. 3 Maja 13/15  
41-800 Zabrze  
tel. +48 32 271 25 11  
Fax +48 32 271 46 17  
e-mail: wgrzeszczak@sum.edu.pl

Ann. Acad. Med. Siles. 2012, 66, 6, 27–36  
Copyright © Śląski Uniwersytet Medyczny  
w Katowicach  
ISSN 0208-5607

ciami wskaźnika BMI ( $p < 0,001$ ). Wartości MAF dla polimorfizmów Y111H, +45 T/G oraz +276 G/T wynosiły odpowiednio: 0,017, 0,098 oraz 0,287. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w rozkładzie badanych genotypów między badanymi grupami dla polimorfizmu *apM1* Y111H ( $\chi^2 = 2,61$ ;  $p = 0,2706$ ), *apM1* +45 T/G ( $\chi^2 = 2,10$ ;  $p = 0,7179$ ) oraz *apM1* +276 G/T ( $\chi^2 = 7,93$ ;  $p = 0,0941$ ). Uwidoczniono jednak istotne statystycznie różnice w rozkładzie alleli dla polimorfizmu *apM1* +276 G/T ( $\chi^2 = 6,10$ ;  $p < 0,05$ ). Rozkład alleli i genotypów dla polimorfizmów Y111H oraz +45 T/G nie pozwalał na przeprowadzenie wiarygodnych analiz statystycznych.

#### WNIOSKI

1. U badanych z nadwagą i otyłością występuje ujemna korelacja między obwodem talii a stężeniem adiponektyny. 2. Wykazano jednak istotne statystycznie różnice w rozkładzie alleli dla polimorfizmu *apM1* +276 G/T pomiędzy badanymi grupami. 3. Nie wykazano zależności pomiędzy występowaniem poszczególnych polimorfizmów a stężeniem adiponektyny w surowicy. 4. Stężenie adiponektyny we krwi koreluje ujemnie z insulinemią i insulinoopornością oraz dodatkowo z wielkością filtracji kłębuszkowej.

#### SŁOWA KLUCZOWE

otyłość, nadwaga, adiponektyna, *apM1*, polimorfizmy

#### ABSTRACT

#### AIM

The primary objective of the study, which is the basis of this thesis, was to evaluate the potential association between selected *apM1* polymorphisms and the plasmatic concentrations of adiponectin and the incidence of overweight and obesity in the population of patients visiting general outpatient clinics of primary medical care.

#### MATERIAL AND METHODS

The reported study comprised a total of 510 adult patients (287 men and 223 women) from the region of southern Poland, who had subsequently sought medical counselling at a general outpatient clinic of primary care. The examined subjects were divided into three (3) groups, following waist circumference values. The control group consisted of patients with a waist circumference  $<94$  cm for men and  $<80$  cm for women. All the subjects had fasting serum concentrations of glucose, insulin, total cholesterol, HDL/LDL fractions, triglycerides, creatinine and adiponectin and genotyping of Y111H (rs17366743), +45 T>G (rs2241766) and +276 G>T (rs1501299) polymorphisms of the adiponectin gene.

#### RESULTS

The serum glucose and insulin concentrations in the overweight and obese subjects were statistically significantly higher vs. those in the control group ( $p < 0.001$ ). The serum adiponectin concentrations in the obese patients were significantly lower vs. those in the overweight subjects ( $p < 0.001$ ) or those without any excess weight ( $p < 0.001$ ). Significantly higher values of the HOMA-IR factor were found in both the obese and the overweight patients ( $p$  for correlation between either group  $< 0.01$ ). A strong correlation was observed between the waist circumference and adiponectin levels. It was demonstrated that the adiponectin concentration in the blood decreased with a waist circumference increase ( $p < 0.001$ ). A similarly strong correlation was noted between the adiponectin levels and BMI (body mass index) values ( $p < 0.001$ ). The MAF values for the Y111H, +45 T/G and +276 G/T polymorphisms were 0.017, 0.098 and 0.287, respectively. No statistically significant differences were demonstrated in the distribution of genotypes between the studied groups for the *apM1* Y111H ( $\chi^2 = 2.61$ ;  $p = 0.2706$ ), *apM1* +45 T/G

( $\chi^2 = 2.10$ ;  $p = 0.7179$ ) and *apM1* +276 G/T ( $\chi^2 = 7.93$ ;  $p = 0.0941$ ) polymorphisms. However, statistically significant differences were visualised in the distribution of alleles for the *apM1* +276 G/T ( $\chi^2 = 6.10$ ;  $p < 0.05$ ) polymorphism.

#### CONCLUSIONS

The results of the reported study confirm the existence of a strong, negative correlation between the adiponectin levels in the blood and waist circumference or BMI values, also described in a number of literature reports. 2. The *apM1* Y111H, +45 T/G and +276 G/T polymorphisms, and in particular the first one, are very rarely found in the Polish population. 3. No correlation was demonstrated between the studied polymorphisms and the incidence of overweight and obesity and serum adiponectin concentration. 4. In the population of subjects with an average GFR = 81.53 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>, the adiponectin concentration positively correlates with glomerular filtration values.

#### KEY WORDS

obesity, overweight, adiponectin, *apM1*, polymorphisms

#### WSTĘP

Adiponektyna jest obok leptyny, rezystyny i wisfatyny jedną z najważniejszych adipocytokin zaangażowanych w kontrolę procesów metabolicznych. Należy ona do nielicznych adipokin o udowodnionym korzystnym wpływie na metabolizm glukozy i lipidów [1,2]. Mimo iż tkanka tłuszczowa wydaje się jedynym miejscem syntezy adiponektyny, jej stężenia u osób otyłych są paradoksalnie niższe. Wydaje się, iż za występowanie tego osobliwego zjawiska odpowiedzialne są inne cytokiny, które w stanach otyłości produkowane są przez tkankę tłuszczową w nadmiarze i które mogą hamować produkcję adiponektyny, mimo że silnie akcentowany w wielu pracach związek adiponektyny z otyłością nie został do tej pory poparty jednoznacznymi wynikami.

Poszukiwanie genetycznych przyczyn otyłości, a także badania nad molekularnymi mechanizmami działania poszczególnych adipokin przyczyniają się do rozwoju wiedzy na temat czynników łączących otyłość z jej powikłaniami. Poszerzają one również wiedzę na temat procesów zaangażowanych w patogenezę insulinoooporności oraz cukrzycy typu 2. Poznanie tych mechanizmów może przyczynić się do opracowania nowych metod prewencji i leczenia otyłości i co za tym idzie – groźnych dla życia powikłań sercowo-naczyniowych.

Celem pracy było znalezienie odpowiedzi na pytania dotyczące:

1) zależności między obwodem talii a stężeniem adiponektyny we krwi,

2) znamienności różnic w rozkładzie genotypów wybranych polimorfizmów genu adiponektyny pomiędzy poszczególnymi grupami badanych,

3) korelacji między polimorfizmami Y111H, +45 T/G oraz +276 G/T genu *apM1* a stężeniem adiponektyny we krwi,

4) dodatkowych znamiennych zależności między stężeniem adiponektyny we krwi a innymi wskaźnikami klinicznymi, takimi jak: stężenie insuliny, wskaźnik insulinoooporności, współczynnik filtracji kłębuszkowej.

#### MATERIAŁ

Badaniem objęto łącznie 510 pacjentów, którzy zgłosili się do Poradni Ogólnej Niepublicznego Zakładu Opieki Zdrowotnej „GMIN-MED” w Dobieszowicach. U 369 badanych stwierdzono nadwagę i otyłość, pozostałe 141 osób, u których nie stwierdzono nadwagi i otyłości, stanowiło grupę kontrolną.

Udział w badaniu zaproponowano każdemu pełnoletniemu pacjentowi zgłaszającemu się do wspomnianej poradni. Pacjentów, którzy wyrazili zgodę na udział w eksperymencie medycznym, poproszono w trakcie wizyty o udzielenie odpowiedzi na pytania zawarte w ankiecie badawczej, dotyczące występowania choroby wieńcowej, nadciśnienia tętniczego, czasu trwania cukrzycy, palenia tytoniu, współistnienia innych chorób metabolicznych

i endokrynologicznych. Otrzymane dane weryfikowano na podstawie dostępnej dokumentacji medycznej. Dodatkowo każdy pacjent poddany został badaniu lekarskiemu, włącznie z pomiarem ciśnienia tętniczego, wzrostu, masy ciała i obwodu pasa.

Otyłość i nadwagę oceniano na podstawie obwodu pasa w talii (na wysokości pępka). Za osoby z nadwagą uznano pacjentów, u których obwód pasa wynosił  $\geq 94$  cm i  $< 102$  cm (mężczyźni) oraz  $\geq 80$  cm i  $< 88$  cm (kobiety), natomiast otyłość stwierdzano przy obwodzie pasa  $\geq 102$  cm (mężczyźni) oraz  $\geq 88$  cm (kobiety).

Grupę kontrolną stanowiło 141 osób z prawidłowym obwodem pasa, u których nie stwierdzono nadwagi, otyłości ani innych przewlekłych schorzeń metabolicznych i endokrynologicznych, mogących predysponować do rozwoju nadwagi i otyłości.

Po uzyskaniu świadomej zgody w formie pisemnej na udział w badaniu klinicznym, w miejscowym laboratorium poradni pobrano krew żylną (20 ml) do badań biochemicznych (cholesterol całkowity, HDL, LDL, trójglicerydy, kreatynina, glukoza przy użyciu spektrofotometru Epoll 20 Bio), hormonalnych i genetycznych (w laboratorium należącym do Katedry i Kliniki Chorób Wewnętrznych, Diabetologii i Nefrologii SUM).

Na prowadzenie badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Śląskiej Izby Lekarskiej w Katowicach (Uchwała nr 20/2010).

## METODY

### BADANIA GENETYCZNE

DNA genomowe izolowano z leukocytów pełnej (mrożonej) krwi obwodowej zestawem do izolacji DNA firmy Epicentre Technologies w modyfikacji Laboratorium Katedry i Kliniki Chorób Wewnętrznych, Diabetologii i Nefrologii SUM. Stężenie wyizolowanego DNA mierzono spektrofotometrem NanoDrop firmy Thermo Scientific.

W genie adiponektyny badano następujące polimorfizmy: Y111H C/T (rs 17366743), +45 G/T (rs 2241766) oraz +276 G/T (rs 1501299).

Do genotypowania polimorfizmów wykorzystano znakowane fluorescencyjnie sondy, używając gotowych zestawów do oznaczania polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP) –

TaqMan Pre-designed SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems).

Łańcuchową reakcją polimerazy (PCR) i identyfikacją alleli przeprowadzano w aparacie 7300 Real Time PCR System (Applied Biosystems).

### OZNACZANIE STĘŻENIA ADIPONEKTYNY

Stężenie adiponektyny oznaczano metodą ELISA przy użyciu zestawów firmy BioVendor.

### OZNACZANIE WYBRANYCH WSKAŹNIKÓW KLINICZNYCH

Na podstawie wyników badań laboratoryjnych obliczano współczynnik przesączania kłębuszkowego eGFR, korzystając ze wzoru według MDRD [3]:

$$eGFR = 186 \cdot \text{kreatynina} [mg\%]^{-1,154} \cdot \text{wiek}^{-0,203} \cdot (0,742 \text{ dla kobiet})$$

Do oceny insulinooporności wykorzystany został m.in. wskaźnik HOMA-IR (Homeostatic Model Assessment) [4]:

$$HOMA-IR = \frac{\text{insulina} \left[ \frac{mj}{l} \right] \cdot \text{glikemia} \left[ \frac{mmol}{l} \right]}{22,5}$$

### ANALIZA STATYSTYCZNA

Dane o rozkładzie normalnym zostały przedstawione jako średnia  $\pm$  odchylenie standardowe. Dane odbiegające od rozkładu normalnego oraz dane porządkowe przedstawiono jako medianę oraz kwartyle dolny i górny. Dane jakościowe przedstawiono w postaci wartości procentowych. Ocena normalności rozkładu otrzymanych wyników dokonano na podstawie testu Shapiro-Wilka.

W celu porównania zmiennych dychotomicznych zastosowano test  $\chi^2$  lub test dokładny Fishera. Korelacje między parametrami wyznaczono, opierając się na korelacji liniowej Pearsona. W przypadku analiz wieloczynnikowych zastosowano: jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA (dla danych o rozkładzie normalnym i spełniających założenia analizy) oraz analizę ANOVA Kruskala-Wallisa (dla pozostałych danych). Jednorodność wariancji oceniono testem Hartleya. Porównania post-hoc przeprowadzono testem Duncana lub poprzez wielokrotne porównania średnich rang. Za parametry istotne statystycznie uznawano zmienne, dla których poziom istotności  $p$  był mniejszy niż 0,05. Obliczenia wykonano z użyciem programów: Statistica 8.0 wersja PL, Excel pakietu MS Office.

## CHARAKTERYSTYKA GRUPY BADANEJ

Badana grupa liczyła 510 osób, w tym 287 (56,3%) kobiet oraz 223 mężczyzn (43,7%). W wywiadzie 131 (25,7%) osób podało używanie tytoniu, 76 (14,9%) miało rozpoznaną chorobę wieńcową, u 241 (47,2%) zdiagnozowano nadciśnienie tętnicze, u 40 (7,8%) cukrzycę typu 2. Średni czas trwania nadciśnienia tętniczego wynosił  $9,4 \pm 6,4$  roku, natomiast cukrzyca  $6,1 \pm 3,8$  roku. W całej grupie 79 (15,5%) badanych miało wartości współczynnika przesączania kłębuszkowego poniżej 60 (ml/min/1,73 m<sup>2</sup>). Kobiety w stosunku do mężczyzn były istotnie statystycznie starsze ( $p < 0,001$ ), charakteryzowały się niższymi wartościami obwodu pasa ( $p < 0,001$ ), ciśnienia rozkurczowego ( $p < 0,001$ ), stężenia w surowicy kreatyniny i wskaźnika przesączania kłębuszkowego ( $p < 0,001$ ), a także wyższym stężeniem w surowicy cholesterolu ( $p < 0,05$ ), frakcji HDL ( $p < 0,001$ ) oraz insuliny ( $p < 0,05$ ).

## WYNIKI

W surowicy osób z nadwagą i otyłych stwierdzono istotnie statystycznie wyższe stężenia glukozy i insuliny niż u osób z grupy kontrolnej ( $p < 0,001$ ). Stężenia adiponektyny w surowicy pacjentów otyłych były istotnie niższe niż u osób z nadwagą ( $p < 0,001$ ) oraz bez nadwagi ( $p < 0,001$ ). Zarówno u osób otyłych, jak i z nadwagą stwierdzono znamienne wyższe wartości wskaźnika insulinooporności HOMA-IR ( $p$  dla korelacji między każdą z grup  $< 0,01$ ). Wykazano, że stężenie adiponektyny we krwi maleje wraz ze wzrostem obwodu talii ( $p < 0,001$ ). Podobnie silną korelację odnotowano między poziomem adiponektyny a wartościami wskaźnika BMI ( $p < 0,001$ ).

Wartości MAF dla polimorfizmów Y111H, +45 T/G oraz +276 G/T wynosiły odpowiednio: 0,017, 0,098 oraz 0,287. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w rozkładzie badanych genotypów między badanymi grupami dla polimorfizmu *apM1* Y111H ( $\chi^2 = 2,61$ ;  $p = 0,2706$ ), *apM1* +45 T/G ( $\chi^2 = 2,10$ ;  $p = 0,7179$ ) oraz *apM1* +276 G/T ( $\chi^2 = 7,93$ ;  $p = 0,0941$ ). Uwidoczniono jednak istotne statystycznie różnice w rozkładzie alleli dla polimorfizmu *apM1* +276 G/T ( $\chi^2 = 6,10$ ;  $p < 0,05$ ). Rozkład alleli i genotypów dla polimorfizmów Y111H oraz +45 T/G nie pozwalał

na przeprowadzenie wiarygodnych analiz statystycznych.

W surowicy osób z nadwagą i otyłych stężenia glukozy i insuliny były istotnie statystycznie wyższe niż u osób z grupy kontrolnej ( $p < 0,001$ ). Stężenia adiponektyny w surowicy pacjentów otyłych były istotnie niższe niż u osób z nadwagą ( $p < 0,001$ ) oraz bez nadwagi ( $p < 0,001$ ). Zarówno u osób otyłych, jak i z nadwagą stwierdzono znamienne wyższe wartości wskaźnika insulinooporności HOMA-IR ( $p$  dla korelacji między każdą z grup  $< 0,01$ ). Wykazano, że stężenie adiponektyny we krwi maleje wraz ze wzrostem obwodu talii ( $p < 0,001$ ). Podobnie silną korelację odnotowano między poziomem adiponektyny a wartościami wskaźnika BMI ( $p < 0,001$ ). Wartości MAF dla polimorfizmów Y111H, +45 T/G oraz +276 G/T wynosiły odpowiednio: 0,017, 0,098 oraz 0,287. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w rozkładzie badanych genotypów między badanymi grupami dla polimorfizmu *apM1* Y111H ( $\chi^2 = 2,61$ ;  $p = 0,2706$ ), *apM1* +45 T/G ( $\chi^2 = 2,10$ ;  $p = 0,7179$ ) oraz *apM1* +276 G/T ( $\chi^2 = 7,93$ ;  $p = 0,0941$ ). Uwidoczniono jednak istotne statystycznie różnice w rozkładzie alleli dla polimorfizmu *apM1* +276 G/T ( $\chi^2 = 6,10$ ;  $p < 0,05$ ). Rozkład alleli i genotypów dla polimorfizmów Y111H oraz +45 T/G nie pozwalał na przeprowadzenie wiarygodnych analiz statystycznych.

## DYSKUSJA

W badanej populacji jedynie 27,6% osób miało prawidłowy obwód pasa, u blisko 24% stwierdzono nadwagę, zaś osoby otyłe stanowiły aż 48,4% badanej grupy. Dodatkowo, oceniono również odsetek osób z nadwagą i otyłością, posługując się wskaźnikiem BMI. Liczba osób z nadwagą lub otyłością była podobna dla obu wskaźników: 369 dla obwodu talii oraz 331 dla wskaźnika BMI. Mimo to wartość współczynnika zgodności obu definicji była stosunkowo niska, głównie dlatego, iż u znacznej liczby osób z nadwagą (BMI 25–29,9 kg/m<sup>2</sup>) stwierdzono obwód pasa oznaczający otyłość brzuszna. Zaobserwowane różnice w rozkładzie wynikają zapewne ze stosunkowo wąskiego przedziału obwodu talii definiującego nadwagę – 8 cm zarówno dla kobiet, jak i mężczyzn. Stąd też grupa z otyłością

centralną była znacznie większa niż w przypadku otyłości ocenianej na podstawie BMI. Odsetek osób z nadwagą (46,6%) i otyłością (18%) definiowanych za pomocą BMI był znacznie bardziej zbliżony do wyników przytoczonych wcześniej badań krajowych. Posługując się wartościami obwodu pasa, nadwagę i otyłość rozpoznano odpowiednio u 23,34 i 61,32% kobiet oraz 24,66 i 31,84% mężczyzn. Stosując jako kryterium wartości BMI, nadwagę stwierdzono u 50,67% męskiej i u 43,55% żeńskiej populacji, zaś BMI  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> u 13% mężczyzn i 21,95% kobiet. Bez względu na rodzaj stosowanego kryterium nadwagę częściej stwierdzano u mężczyzn, zaś otyłość u kobiet. Obserwacja ta jest zbieżna z wynikami większości dużych badań na terenie Polski.

Towarzyszącą otyłości insulinooporność potwierdzono, analizując wartości wskaźnika HOMA-IR, które były znamienne wyższe u chorych otyłych. Korzystając ze wzoru HOMA- $\beta$ , podjęto próbę oceny czynności komórek wyspowych trzustki. Wykazano, że wartości tego wskaźnika malały wraz z pojawianiem się nadwagi i otyłości. Zmniejszoną insulinooporność wynikającą z nadmiernej masy tkanki tłuszczowej stwierdzono także za pomocą wskaźnika QUICKI, którego wartości były znamienne niższe u pacjentów z nadwagą i otyłością niż u osób z prawidłowym obwodem talii.

W badaniach będących podstawą omawianej pracy potwierdzono również częstsze występowanie dyslipidemii wśród osób z nadwagą i otyłością. U osób z prawidłowym obwodem pasa przyjmujących leki hipolipemizujące średnie stężenia cholesterolu całkowitego, LDL oraz TG były znamienne wyższe niż u osób nieleczonych z powodu zaburzeń lipidowych, co z jednej strony odzwierciedla zasadność włączonego wcześniej leczenia, z drugiej zaś może świadczyć o niedostatecznych efektach terapeutycznych stosowanych dawek leków przeciwlipemicznych.

Dodatkowo oceniono również rozkład wartości współczynnika przesączania kłębuszkowego eGFR wyrażonego za pomocą wzoru MDRD. Wykazano znamienne różnice w wartościach tego współczynnika między wszystkimi analizowanymi grupami. Występowaniu nadwagi i otyłości towarzyszył znamienne niższy eGFR, co odzwierciedla związek otyłości z pogorszeniem czynności wydalniczej nerek. W grupie osób z nadwagą odnotowano pra-

wie 2,5-krotnie, a w grupie otyłych blisko 6-krotnie częstsze występowanie trzeciego i wyższych stadiów przewlekłej choroby nerek niż u osób z prawidłowym obwodem pasa. Nie można jednak jednoznacznie ocenić bezpośredniego wpływu ilości tkanki tłuszczowej na sprawność filtracji kłębuszkowej. Zapewne pogarszającą się czynność wydalniczą nerek towarzyszącą otyłości spowodowana jest znacznie większym odsetkiem chorych na cukrzycę i nadciśnienie tętnicze w grupach z nadwagą i otyłością. Jak bowiem wiadomo, obie te choroby prowadzące do nefropatii cukrzycowej i nadciśnieniowej są zarówno w Polsce, jak i na świecie najczęstszymi przyczynami przewlekłej choroby nerek.

Opisując zaburzenia metaboliczne towarzyszące występowaniu nadwagi i otyłości, wspomniano o adiponektynie, której stężenie we krwi było znamienne niższe u osób z ponadnormatywnym obwodem pasa. Obniżenie stężenia tej adipokiny uznano za zaburzenie, gdyż zgodnie z obecnym stanem wiedzy, adiponektyna wywiera korzystne efekty metaboliczne, a jej obniżony poziom może stanowić niezależny czynnik ryzyka występowania cukrzycy typu 2, nadciśnienia tętniczego oraz zespołu metabolicznego.

Sugestie dotyczące związku otyłości z obniżonym poziomem adiponektyny we krwi pojawiały się już we wczesnych pracach Spiegelmana i wsp., którzy prowadząc badania nad adiponektyną, zaobserwowali zmniejszoną ekspresję mRNA hormonu w tkance tłuszczowej pochodzącej od otyłych myszy i ludzi [5].

W przeprowadzonych badaniach poziomy adiponektyny znamienne korelowały zarówno z obwodem pasa ( $r = -0,5984$ ;  $p < 0,001$ ), jak i wartościami wskaźnika masy ciała BMI ( $r = -0,6640$ ;  $p < 0,001$ ). Należy jednak zauważyć, iż mimo wykazanej silnej korelacji, otrzymane wyniki nie pozwalają odpowiedzieć na pytanie, czy to otyłość i nadmiar masy tłuszczowej doprowadzają do spadku stężenia adiponektyny, czy też obniżony poziom hormonu uczestniczy w rozwoju otyłości. Aby dokładnie ocenić związek przyczynowo-skutkowy, należałoby przeprowadzić badania, w których można by obserwować zmiany poziomów krążącej we krwi adiponektyny podczas zmian masy ciała lub też analizować wahania masy ciała i tkanki tłuszczowej w przebiegu indukowanych doświadczalnie zmian stężenia hormonu w organizmie. Rzecz jasna, w przypadku

badania na ludziach jedynie pierwsza z metod wydaje się możliwa do zrealizowania.

Analizując rozkład genotypów i alleli polimorfizmów *apM1* Y111H, +45 T/G oraz +276 G/T w badanych grupach, chcieliśmy sprawdzić, czy istnieje związek między tymi polimorfizmami a występowaniem nadwagi i otyłości. Analiza nie wykazała żadnych istotnych statystycznie różnic w rozkładzie genotypów i alleli dla polimorfizmu Y111H. Należy podkreślić, że w przypadku tego polimorfizmu genotyp CT występował bardzo rzadko (3,33%), zaś genotypu CC nie stwierdzono w ogóle. Podobnych wyników dostarczyła analiza rozkładu alleli. W całej populacji dominował allel T (98,24%).

Znamiennych statystycznie różnic w rozkładzie genotypów nie uzyskaliśmy również dla polimorfizmu +45 T/G. W całej populacji dominował genotyp TT (82,94%), występowanie zaś genotypu GG było niezmiernie rzadkie (0,78%). Badane przez nas grupy nie różniły się także rozkładem alleli. Zarówno u osób z normatywnym obwodem pasa, jak i z nadwagą oraz otyłością przeważał allel T, który wśród wszystkich badanych występował z częstotścią 91%.

Rozkład genotypów i alleli dla polimorfizmu +276 G/T był nieco bardziej zróżnicowany, jednak – podobnie jak w przypadku pozostałych dwóch polimorfizmów – nie stwierdzono znamiennych statystycznie różnic w rozkładzie genotypów między analizowanymi grupami. Wykazano jednak znamiennej różnicę w rozkładzie alleli dla tej zmienności genetycznej ( $p < 0,05$ ).

Ocenę zależności między +276 G/T a występowaniem otyłości przeprowadzili także Bouatia-Naji i wsp. [6], nie wykazując jednak istotnych różnic w rozkładzie alleli dla wymienionego polimorfizmu. Yang i wsp. w opublikowanej w 2007 r. pracy wykazali związek między polimorfizmem +276 G/T a ryzykiem wystąpienia otyłości [7]. Częstość występowania genotypów GG, GT i TT w całej populacji wynosiła odpowiednio 48,9%, 43,5% oraz 7,6%. Badacze dowiedli istotnego związku allelu +276 G z mniejszym ryzykiem wystąpienia nadwagi i otyłości, potwierdzając tym samym wyniki przytoczonego wyżej badania na populacji francuskiej. Pojawienie się genotypu GT powodowało, że iloraz szans wystąpienia BMI  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup> wynosił 1,32 w porównaniu z grupą z genotypem GG. Autorzy genotypowali także SNP +45, dla którego częstość

występowania genotypu TT w całej badanej grupie wynosiła 49,5%, genotypu TG 42,9%, zaś genotypu GG 7,6%. Nie zaobserwowano jednak związku polimorfizmu +45 z jakąkolwiek fenotypową składową zespołu metabolicznego.

Loos i wsp. w badaniu obejmującym 759 osób ze 183 kanadyjsko-francuskich rodzin zamieszkujących okolice Quebecu [8] wykazali znamiennej związek ( $p = 0,0002 - 0,04$ ) polimorfizmu +45 T/G z występowaniem zarówno ogólnej, jak i brzusznej otyłości. Homozygoty GG były znamiennej chudsze i miały mniejszą zawartość trzewnej tkanki tłuszczowej, ocenianą za pomocą tomografii komputerowej niż nosiciele allelu T. Genotyp GG cechowały o średnio 28 mm mniejsze wartości 6 *skinfold thicknesses* oraz 6% niższy procent BF. Autorzy nie zaobserwowali jednak żadnego związku między polimorfizmem +276 G/T a ocenianymi wyznacznikami otyłości.

Loos i wsp. [8] wykazali znamiennej większy przyrost BMI ( $p = 0,009$ ) oraz WHR ( $p = 0,007$ ) u osób z genotypem +45 GG w porównaniu z grupą +45 TT + TG.

Ukkola i wsp. [9] analizowali związek polimorfizmu Y111H populacji fińsko-amerykańskiej ( $n = 779$ ), opierając się na badaniach „The HERITAGE Family Study” oraz „Oulu Diabetic Study”. W populacji fińskiej ujawniono znamiennej częstsze ( $p = 0,033$ ) występowanie allelu His111 (C) u chorych na cukrzycę typu 2 (5,1%) w porównaniu z grupą kontrolną (2,6%). Z kolei u osób z badania HERITAGE występowanie allelu His111 związane było z niższym wskaźnikiem insulinowrażliwości ( $p = 0,018$ ). Nie uzyskano jednak znamiennej korelacji między omawianą mutacją a występowaniem otyłości.

W naszym badaniu ocenialiśmy potencjalny wpływ trzech polimorfizmów genu adiponektyny: Y111H, +45 T > G oraz +276 G > T na stężenie adiponektyny we krwi. Biorąc pod uwagę, iż stężenia omawianej adipokiny mogą również determinować inne pozagenetyczne czynniki, wykonano analizę regresji wielowymiarowej, z uwzględnieniem możliwego wpływu płci oraz obwodu pasa na stężenie hormonu. W przypadku polimorfizmów Y111H oraz +45 G/T uzyskano rozkład typu dzikiego, który uniemożliwiał wiarygodną analizę. Przedstawiono jedynie próbę oceny korelacji między stężeniem adiponektyny a polimorfizmem +276 G/T. Wyniki naszych analiz nie wykazały istotnego wpływu genotypów tego polimor-

fizmu na stężenie adiponektyny w surowicy ( $p = 0,2085$ ).

SNP +276 G/T w obrębie intronu 2 jest niewątpliwie jednym z najczęściej badanych polimorfizmów genu *apM1*, zapewne dlatego, iż zwykle w większości populacji występują wszystkie związane z nim genotypy, co stwarza dogodne warunki do analiz statystycznych. Poza tym w licznych badaniach wykazuje się związek tego polimorfizmu z ryzykiem rozwoju cukrzycy oraz schorzeń układu sercowo-naczyniowego. Niewątpliwie badania nad związkiem polimorfizmów genu *apM1* z poziomem krążącej we krwi adiponektyny dają znacznie bardziej zbieżne wyniki niż badania oceniające wpływ tych zmienności genetycznych na występowanie nadwagi i otyłości. Pomimo iż rezultaty przeprowadzanych metaanaliz przekonująco wskazują na udział mutacji i polimorfizmów genu *apM1* w regulacji syntezy i sekrecji adiponektyny, należy pokreślić, że zmiany genetyczne w omawianym locus odpowiedzialne są za jedynie 2–8% osoczowej zmienności hormonu [10]. Jeśli przyjąć wspomniane wcześniej założenie, że 30–70% tej zmienności spowodowane jest czynnikami genetycznymi, to oczywisty jest wniosek, że najpewniej inne loci w większym stopniu zaangażowane są w kontrolę uwalniania adiponektyny. Hipotezę tę potwierdzają badania, w których wykazano obecność silnych sprzężeń w lokalizacji 3q27, jednak poza obszarem zajmowanym przez gen adiponektyny [11].

Analizując potencjalny wpływ różnych wariantów genetycznych na stężenie adiponektyny, nie można zapominać o silnej i dość dobrze popartej licznymi badaniami zależności między poziomem tej adipokiny a objętością tkanki tłuszczowej w organizmie [12]. Nie bez znaczenia wydaje się również płeć badanych osób, gdyż według niektórych doniesień, istnieje dymorfizm płciowy dotyczący stężeń adiponektyny. Należy też wziąć pod uwagę możliwy wpływ niektórych leków (insulina, tiazolidinediony, ACEI, ARB), których zażywanie może w znaczącym stopniu wpłynąć na poziomy adiponektyny [13].

W uzyskanych przez nas wynikach poziom adiponektyny znamienne ujemnie korelował ze stężeniem insuliny (dla log-Insulina:  $r = -0,2320$ ;  $p < 0,001$ ), co stanowi potwierdzenie związku hiperinsulinemii z obniżonym stężeniem adiponektyny. W naszych wynikach wyższe wartości HOMA-IR wskazujące na większą insulinooporność korelowały z niż-

szymi stężeniami adiponektyny ( $r = -0,2778$ ;  $p < 0,001$ ). Statystycznie znamienne ujemną korelację ( $r = -0,248$ ;  $p < 0,001$ ) między stężeniem adiponektyny a wskaźnikiem HOMA-IR wykazali również inni [14,15].

W celu oceny insulinowrażliwości wykorzystaliśmy też nieco rzadziej stosowany wskaźnik QUICKI. W naszej analizie ujawniliśmy znamienne dodatnią korelację między wskaźnikiem insulinowrażliwości a stężeniem adiponektyny ( $r = 0,2682$ ;  $p < 0,001$ ), co jest zgodne z wynikami innych autorów [16,17].

W swoich badaniach zastosowaliśmy ponadto wskaźnik HOMA- $\beta$ , którego wartości mogą odzwierciedlać funkcję komórek  $\beta$  trzustki. Nie uzyskaliśmy jednak żadnej znamiennej statystycznie korelacji ze stężeniem adiponektyny w surowicy, mimo iż w porównaniu badanych grup chorych z nadwagą i otyłością przyjmował on wartości znamienne niższe ( $p < 0,05$ ).

Nie ulega wątpliwości, że omówione tu matematyczne modele oceny wrażliwości na insulinę należy traktować jako metodę alternatywną i zastępczą. Wskaźniki HOMA i QUICKI są jedynie pośrednimi wyznacznikami bazującymi na jednorazowych pomiarach glukozy i insuliny na czczo. Z kolei zawężona precyzja i powtarzalność uzyskiwanych za ich pomocą wyników może przekładać się na znaczną rozbieżność rezultatów przeprowadzanych badań. Złotym standardem w ocenie insulinooporności pozostaje nadal metoda klamry metabolicznej, której ze względu na wymienione wcześniej ograniczenia w omawianym badaniu nie zastosowano.

Udział nerek w metabolizmie adiponektyny nie został jeszcze w pełni poznany. Głównym obszarem zainteresowań badaczy wciąż pozostaje wpływ adiponektyny na układ krążenia oraz jej udział w gospodarce węglowodanowej organizmu, liczba zaś prac poświęconych relacji nerki–adiponektyna jest tu niewielka. Badania dowodzą, iż hipoadiponektynemia może być poważnym czynnikiem ryzyka schorzeń i incydentów sercowo-naczyniowych u chorych z przewlekłą niewydolnością nerek [18,19]. U chorych ze schyłkową niewydolnością nerek często obserwuje się relatywnie wyższe stężenia adiponektyny. Uwzględniając masę cząsteczkową polimerów adiponektyny, przypuszcza się, że w warunkach upośledzonej filtracji kłębuszkowej dochodzi do obniżenia klirensu nerkowego adiponektyny, a jej stężenie we krwi wzrasta.



W przeprowadzonym przez nas badaniu wykazano znamienne dodatnią korelację między stężeniem adiponektyny a współczynnikiem filtracji kłębuszkowej. Z kolei w grupie osób z nadwagą i otyłością stwierdzano znamienne częściej występowanie nadciśnienia tętniczego oraz cukrzycy. Można by zatem spekulować, że to właśnie te jednostki chorobowe wpłynęły na rodzaj i siłę korelacji stężenia adiponektyny ze współczynnikiem przesączania kłębuszkowego. Stąd też uzasadnione wydało się przeprowadzenie analizy regresji wielowymiarowej, uwzględniającej możliwy wpływ choroby nadciśnieniowej oraz cukrzycy na czynność wydalniczą nerek. Okazało się, iż po uwzględnieniu wieku, płci, występowania cukrzycy oraz choroby nadciśnieniowej nie uwidoczono znamiennej asocjacji między poziomem adiponektyny a GFR.

Ponadto, odnosząc się do wyników cytowanych wcześniej prac, należy zauważyć, że ujemną korelację między stężeniem adiponektyny a funkcją nerek obserwowano głównie u pacjentów ze zdiagnozowaną niewydolnością tego narządu – 3. i wyższymi stadiami przewlekłej choroby nerek. W omówionym w niniejszej pracy badaniu średnia wartość współczynnika GFR wynosiła  $81,52 \pm 21,26$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, zaś GFR < 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> stwierdzono u 79 spośród wszystkich 510 badanych. Można zatem wnioskować, że upośledzenie czynności

nerek w badanej przez nas populacji nie było na tyle częste, a spadek klirensu adiponektyny na tyle znaczący, by korelacja GFR–adiponektyna przyjęła wartość ujemną. Potwierdzeniem powyższych wniosków mogą być wyniki innych badaczy [20]. Z całą pewnością należy stwierdzić, że rola nerek w kinetyce i metabolizmie adiponektyny nie została jeszcze w pełni poznana i stanowi wyzwanie dla przyszłych badań.

#### WNIOSKI

1. U badanych z nadwagą i otyłością występuje ujemna korelacja między obwodem talii a stężeniem adiponektyny.
2. Między poszczególnymi grupami badanych nie wykazano istotnych różnic w rozkładzie genotypów polimorfizmów Y111H C/T, +45 G/T i +276 G/T genu adiponektyny, natomiast w rozkładzie alleli dla polimorfizmu *apM1* +276 G/T różnice były istotne statystycznie.
3. Nie wykazano zależności między występowaniem poszczególnych polimorfizmów genu adiponektyny a stężeniem adiponektyny w surowicy.
4. Stężenie adiponektyny we krwi znamienne koreluje z insulinemią, insulinopornością oraz filtracją kłębuszkową.

#### PIŚMIENICTWO

1. Yamauchi T., Kamon J., Minokoshi Y. et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat. Med.* 2002; 8: 1288–1295.
2. Ouchi N., Kihara S., Arita Y. et al. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. *Circulation* 2001; 103: 1057–1063.
3. Levey A.S., Bosch J.P., Lewis J.B., Greene T., Rogers N., Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann. Intern. Med.* 1999; 130: 461–470.
4. Wallace T.M., Levy J.C., Matthews D.R. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care* 2004; 27: 1487–1495.
5. Hu E., Liang P., Spiegelman B.M. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J. Biol. Chem.* 1996; 271: 10697–10703.
6. Bouatia-Naji N., Meyre D., Lobbens S. et al. ACDC/adiponectin polymorphisms are associated with severe childhood and adult obesity. *Diabetes* 2006; 55: 545–550.
7. Yang W.S., Yang Y.C., Chen C.L. et al. Adiponectin SNP276 is associated with obesity, the metabolic syndrome, and diabetes in the elderly. *Am. J. Clin. Nutr.* 2007; 86: 509–513.
8. Loos R.J., Ruchat S., Rankinen T., Tremblay A., Pérusse L., Bouchard C. Adiponectin and adiponectin receptor gene variants in relation to resting metabolic rate, respiratory quotient, and adiposity-related phenotypes in the Quebec Family Study. *J. Clin. Nutr.* 2007; 85: 26–34.
9. Ukkola O., Santaniemi M., Rankinen T. et al. Adiponectin polymorphisms, adiposity and insulin metabolism: HERITAGE family study and Oulu diabetic study. *Ann. Med.* 2005; 37: 141–150.
10. Menzaghi C., Trischitta V., Doria A. Genetic influences of adiponectin on insulin resistance, type 2 diabetes, and cardiovascular disease. *Diabetes* 2007; 56: 1198–1209.
11. Guo X., Saad M.F., Langefeld C.D. et al. Genome-wide linkage of plasma adiponectin reveals a major locus on chromosome 3q distinct from the adiponectin structural gene: the IRAS family study. *Diabetes* 2006; 55: 1723–1730.
12. Arita Y., Kihara S., Ouchi N. et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1999; 257: 79–83.
13. Nakamura T., Kawachi K., Saito Y. et al. Effects of ARB or ACE-inhibitor administration on plasma levels of aldosterone and adiponectin in hypertension. *Int. Heart. J.* 2009; 50: 501–512.
14. Jang Y., Lee J.H., Chae J.S. et al. Association of the 276G→T polymorphism of the adiponectin gene with cardiovascular disease risk factors in nondiabetic Koreans. *Am. J. Clin. Nutr.* 2005; 82: 760–767.
15. Lee J.M., Kim J.H., Son H.S. et al. Val-sartan increases circulating adiponectin levels without changing HOMA-IR in patients with type 2 diabetes mellitus and hypertension. *J. Int. Med. Res.* 2010; 38: 234–241.

16. Gannagé-Yared M.H., Khalife S., Semaan M., Fares F., Jambart S., Halaby G. Serum adiponectin and leptin levels in relation to the metabolic syndrome, androgenic profile and somatotropic axis in healthy non-diabetic elderly men. *Eur. J. Endocrinol.* 2006;155: 167–176.
17. Yang W.S., Lee W.J., Funahashi T. et al. Plasma adiponectin levels in overweight and obese Asians. *Obes. Res.* 2002; 10: 1104–1110.
18. Becker B., Kronenberg F., Kielstein J.T. et al. Renal insulin resistance syndrome, adiponectin and cardiovascular events in patients with kidney disease: the mild and moderate kidney disease study. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2005; 16: 1091–1098.
19. Zoccali C., Mallamaci F., Tripepi G. et al. Adiponectin, metabolic risk factors, and cardiovascular events among patients with end-stage renal disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2002; 13: 134–141.
20. Risch L., Saely C., Hoeffle G. et al. Relationship between glomerular filtration rate and the adipokines adiponectin, resistin and leptin in coronary patients with predominantly normal or mildly impaired renal function. *Clin. Chim. Acta.* 2007; 376: 108–113.