



The importance of platelet phosphofructokinase (PFKP) rs6602024 polymorphism in pathogenesis of obesity

Znaczenie polimorfizmu rs6602024 genu fosfofruktokinazy płytkowej (PFKP) w patogenezie otyłości

Łukasz Woźny, Marta Danikiewicz, Magdalena Stefanowicz, Elżbieta Wojtas, Mateusz Gola, Mirosław Śnit, Władysław Grzeszczak

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Diabetologii i Nefrologii, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

ABSTRACT

OBJECTIVE: The aim of the study was to demonstrate the potential relationship between overweight and obesity and the platelet phosphofructokinase (PFKP) rs6602024 polymorphism in patients reporting to a general practitioner at a primary care outpatient clinic.

MATERIAL AND METHODS: The study included a total of 438 patients from Southern Poland who reported to the general primary care outpatient clinic. PFKP rs6602024 polymorphism genotyping was conducted using fluorescence-labelled probes. The Statistica 8.0 program was used to calculate individual parameters.

RESULTS: Certain metabolic disorders were shown in overweight and obese people, as well as in the whole group of overweight or obese subjects. The results were compared with the outcomes obtained from people who were not overweight or obese. There were no statistically significant differences in the distribution of PFKP rs6602024 polymorphism genotypes and alleles between the study and control group. The control group showed a statistically significant difference in allele distribution between men and women. Among women, a statistically significant difference was found in the distribution of G/A alleles between the controls and overweight people as well as those overweight and obese altogether.

CONCLUSIONS:

1. Overweight and obesity are very common in people reporting to the primary care outpatient clinic.
2. The presence of PFKP rs6602024 polymorphism allele A in women is associated with an increased risk of being overweight and obese.

KEY WORDS

obesity, polymorphism, PFKP

Received: 15.03.2016

Revised: 12.06.2016

Accepted: 11.07.2016

Published online: 09.06.2017

Address for correspondence: Prof. dr hab. n. med. Władysław Grzeszczak, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Diabetologii i Nefrologii, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. 3 Maja 13/15, 41-800 Zabrze, tel. +48 32 271 25 11, e-mail: wgrzeszczak@sum.edu.pl

Copyright © Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
www.annales.sum.edu.pl

**STRESZCZENIE**

CEL PRACY: Celem pracy było wykazanie potencjalnego związku między występowaniem nadwagi i otyłości a polimorfizmem rs6602024 genu fosfofruktokinazy płytkowej (PFKP) u kolejnych pacjentów zgłaszających się do lekarza pierwszego kontaktu w POZ.

MATERIAŁ I METODY: Badaniem objęto łącznie kolejnych 438 pacjentów z rejonu Polski południowej, którzy zgłaszali się do poradni ogólnej POZ. Genotypowanie polimorfizmu genu PFKP rs6602024 prowadzono z wykorzystaniem znakowanych fluorescencyjnie sond. Do obliczeń poszczególnych parametrów w ujęciu statystycznym zastosowano program Statistica 8,0.

WYNIKI: U osób z nadwagą oraz otyłością, a także w całej badanej grupie osób z nadwagą lub otyłością wykazano występowanie określonych zaburzeń metabolicznych. Wyniki porównano z rezultatami osób bez nadwagi i otyłości. U badanych osób nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w rozkładzie genotypów i alleli polimorfizmu rs6602024 PFKP w porównaniu z kontrolą. W grupie kontrolnej wykazano znamiennej statystycznie różnicę pomiędzy kobietami i mężczyznami w rozkładzie alleli. Wśród kobiet stwierdzono znamiennej statystycznie różnicę w rozkładzie alleli G/A między osobami z grupy kontrolnej a osobami z nadwagą oraz nadwagą i otyłością razem wziętych.

WNIOSKI:

1. Nadwaga i otyłość bardzo często występują u osób zgłaszających się do lekarza POZ.
2. Występowaniu allelu A polimorfizmu rs6602024 genu PFKP u kobiet towarzyszy zwiększone ryzyko nadwagi i otyłości.

SŁOWA KLUCZOWE

otyłość, polimorfizm, PFKP

INTRODUCTION

Excess weight today is a global problem, not only medical, but also social, psychological and economic. According to the World Health Organization (WHO), there are about 1.6 billion people in the world with a body mass index (BMI) of more than 25. In developed countries of Western Europe, overweight and obesity have taken the size of a global epidemic (for instance, in the UK, 68% of adults are obese or overweight, in Poland according to the WOBASZ study 56%) [1,2]. Obesity is involved in the pathogenesis of many civilization diseases. It is associated with an increased risk of cardiovascular disease, type 2 diabetes, obstructive sleep apnoea, certain malignancies and skeletal system disorders [3]. In addition, obesity is accompanied by a significant reduction in survival time, whereas huge obesity leads to various degrees of disability [4]. Interestingly, studies conducted in Poland have shown that over 80% of all patients with newly diagnosed type 2 diabetes are overweight and/or obese [5]. In this way, the role of obesity in the pathogenesis of type 2 diabetes seems to be of great importance. This suggests that it is worth considering the pathogenesis of obesity itself.

The large size of this epidemic is primarily caused by lifestyle changes related to civilization development, especially the availability of cheap, highly processed, calorie-rich food and a decrease in physical activity

WSTĘP

Otyłość i nadwaga są współcześnie światowym problemem nie tylko medycznym, lecz także społecznym, psychologicznym i ekonomicznym. Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO – World Health Organization) na świecie żyje około 1,6 miliarda ludzi o wskaźniku masy ciała (BMI – *body mass index*) większym niż 25. W krajach rozwiniętych Europy Zachodniej nadwaga i otyłość przybrały rozmiary ogólnospołecznej epidemii (np. w Wielkiej Brytanii 68% dorosłych osób jest otyłych lub ma nadwagę, w Polsce 56% wg badania WOBASZ) [1,2]. Otyłość bierze udział w patogenezie wielu chorób cywilizacyjnych. Towarzyszy jej zwiększone ryzyko chorób sercowo-naczyniowych, cukrzycy typu 2, obturacyjnego bezdechu sennego, niektórych nowotworów oraz schorzeń układu kostno-szkieletowego [3]. Ponadto występowaniu otyłości towarzyszy znaczące skrócenie czasu przeżycia, natomiast otyłość olbrzymia prowadzi do różnego stopnia niepełnosprawności [4]. Ciekawych wniosków dostarczyły przeprowadzone w Polsce badania, które wykazały, że ponad 80% wszystkich chorych z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 2 stanowią osoby z nadwagą i/lub otyłością [5]. W ten sposób rola otyłości w patogenezie rozwoju cukrzycy typu 2 wydaje się mieć ogromne znaczenie. Nasuwa to refleksję, że warto się zastanowić nad patogenezą samej otyłości.



[4,6]. However, already in the second half of the 20th century, animal studies showed that genetic factors are also important. They are thought to be responsible for 25–45% of obesity cases [7].

Each year, researchers discover increasingly more genes associated with obesity (Genome-Wide Association (GWA) study). Specific polymorphisms of individual genes may promote the excessive accumulation of body fat. Variants of genes that protect against the development of obesity are also possible [6].

Increasingly more often, researchers take an interest in genes originally associated with other diseases, but which, because of their key role in carbohydrate metabolism, may have an impact on the pathogenesis of obesity. These include the gene of the platelet phosphofruktokinazy (PFKP) protein enzyme, catalysing the irreversible conversion of fructose-6-phosphate to fructose-1,6-diphosphate during glycolysis. It is a regulatory enzyme of this process. The PFKP gene is located on chromosome 10 at position 10p15.3-p15.2 [8]. As a key enzyme in glucose metabolism, it is believed to have an effect on the balance between glycolysis and glycogenogenicity, and therefore significantly affects the pathomechanisms of obesity [9,10]. Platelet isoform is one of three PFK isoforms, the remaining isoforms are present in the liver and skeletal muscles [11]. In addition to the platelet location, the gene is also expressed in fibroblasts and the brain. This PFK isoform is the most controlled because its affinity for fructose-6-phosphate is the smallest of all three isoforms, and it is most strongly inhibited by ATP [12]. This gene appears to play a role in the pathogenesis of many diseases; recent studies have shown a potential association with metabolic disorders, including obesity.

The aim of this study was to demonstrate the potential association between overweight and obesity and the platelet phosphofruktokinazy (PFKP) rs6602024 polymorphism in patients reporting to a general practitioner at a primary care outpatient clinic.

MATERIAL

The study encompassed 438 patients from the Upper Silesia region, including 245 women (55.94%) and 193 men (44.06%) who reported to the "GMIN-MED" General Outpatient Clinic of the Non-public Health Care Unit in Dobieszowice for medical advice. All adult persons who expressed their wish to participate in the clinical trial answered questions included in a survey questionnaire concerning the following conditions: coronary artery disease, hypertension, duration of diabetes, smoking, coexistence of other metabolic and endocrine diseases. Patients with endocrine diseases, eating disorders, undergoing steroid therapy,

Za rozmiary tej epidemii odpowiedzialne są przede wszystkim zmiana stylu życia, związana z rozwojem cywilizacyjnym, zwłaszcza dostępność taniej, wysoko przetworzonej i kalorycznej żywności, oraz spadek aktywności fizycznej [4,6]. Jednak już w drugiej połowie XX wieku badania przeprowadzone na zwierzętach dowiodły, że nie bez znaczenia są również czynniki genetyczne. Uważa się, że odpowiadają za występowanie otyłości w 25–45% [7].

Każdego roku odkrywane są kolejne geny, które mogą odgrywać istotną rolę w rozwoju otyłości (badania Genome-Wide Association – GWA). Występowanie określonych polimorfizmów poszczególnych genów może sprzyjać nadmiernemu gromadzeniu przez organizm tkanki tłuszczowej. Możliwe jest również występowanie takich wariantów genów, które chronią przed rozwojem otyłości [6].

Coraz częściej celem zainteresowania naukowców stają się geny, które pierwotnie związane były z innymi chorobami, jednak ze względu na kluczową rolę w metabolizmie węglowodanów mogą mieć wpływ również na patogenezę otyłości. Jednym z nich jest gen fosfofruktokinazy płytkowej (PFKP) enzymu białkowego katalizującego nieodwrotną przemianę fruktozo-6-fosforanu do fruktozo-1,6-dwufosforanu zachodzącą podczas glikolizy. Jest to enzym regulatorowy tego procesu. Gen PFKP jest zlokalizowany na chromosomie 10 w położeniu 10p15.3-p15.2 [8]. Uważa się, że jako kluczowy enzym w przemianie glukozy ma wpływ na równowagę glikolizy i glikogenogenezy, a tym samym może znacząco oddziaływać na patomechanizmy otyłości [9,10]. Izoforma płytkowa jest jedną z trzech izoform PFK, pozostałymi zaś są izoforma wątrobowa występująca w wątrobie i izoforma mięśniowa występująca w mięśniach szkieletowych [11]. Oprócz lokalizacji w płytkach krwi, ekspresja genu zachodzi również w fibroblastach oraz mózgu. Jest to najściślej kontrolowana izoforma PFK, ponieważ jej powinowactwo do fruktozo-6-fosforanu jest najmniejsze z wszystkich trzech izoform, a także jest najsilniej hamowana przez ATP [12]. Wydaje się, że gen ten pełni rolę w patogenezie wielu chorób, a ostatnie badania dowodzą potencjalnego związku z zaburzeniami metabolicznymi, w tym z otyłością.

Celem obecnego badania było wykazanie potencjalnego związku między występowaniem nadwagi i otyłości a polimorfizmem rs6602024 genu fosfofruktokinazy płytkowej (PFKP) u kolejnych pacjentów zgłaszających się do lekarza pierwszego kontaktu w POZ.

MATERIAŁ

Badaniem objęto 438 kolejnych pacjentów z rejonu Górnego Śląska, w tym 245 kobiet (55,94%) i 193 mężczyzn (44,06%), którzy zgłosili się do Poradni



as well as those with disseminated malignancies were excluded from the study. The data were verified on the basis of available medical records. In addition, each patient was subjected to a medical examination, including measurement of blood pressure, height, weight and waist circumference.

Overweight was diagnosed in patients with a waist circumference ≥ 94 cm and < 102 cm (males) and ≥ 80 cm and < 88 cm (women) and obesity in those with a waist circumference ≥ 102 cm (men) and ≥ 88 cm (women). The control group consisted of 119 people with a normal waist circumference (women < 80 cm, men < 94 cm). The control group included 37 women and 82 men, the overweight group contained 59 women and 48 men, and the obese group 149 women and 63 men. In addition, the obese individuals were statistically significantly older (mean age 58 years) than the controls (45 years) and overweight (51 years) ($p < 0.001$). The survey found that 109 people smoked cigarettes, 37 suffered from type 2 diabetes and 274 had hypertension. The mean duration of hypertension and type 2 diabetes was 7.98 and 7.27 years, respectively.

Once written informed consents were obtained, in a local laboratory venous blood (20 ml) was taken for biochemical tests (evaluation of glucose, insulin and creatinine levels, among others). Hormonal and genetic examinations were performed in the laboratory of the Chair of Internal Diseases, Diabetology and Nephrology of the Medical University of Silesia.

The research was approved by the Bioethics Committee of the Silesian Medical Chamber in Katowice (Resolution No. 20/2010).

METHODS

Determination of the glucose and creatinine concentrations was performed using the Epoll 20 Bio spectrophotometer, while the ELISA method was used to evaluate the insulin level. Genomic DNA was isolated from peripheral blood leukocytes using the Epicentre Technologies DNA isolation kit in the molecular biology laboratory of the Chair of Internal Diseases, Diabetology and Nephrology of the Medical University of Silesia. Optimization of the isolated DNA concentrations to 15 ng/ μ l was conducted on the basis of measurements taken with a NanoDrop spectrometer from Thermo Scientific. Two fluorescence-labelled probes, complementary to each of the alleles, were used to genotype the platelet phosphofructokinase (PFKP) rs6602024 polymorphism with the ready-to-use TaqMan Pre-designed SNP Genotyping Assay kit (Applied Biosystems). Polymerase chain reaction and allele identification were performed in the 7300 Real Time PCR System (Applied Biosystems). Glomerular

Ogólnej Niepublicznego Zakładu Opieki Zdrowotnej „GMIN-MED” w Dobieszowicach w celu uzyskania porady lekarskiej. Wszystkie pełnoletnie osoby, które wyraziły chęć udziału w badaniu klinicznym, w trakcie wizyty odpowiadały na pytania zawarte w ankiecie dotyczącej następujących schorzeń: występowania choroby wieńcowej, nadciśnienia tętniczego, czasu trwania cukrzycy, palenia tytoniu, współistnienia innych chorób metabolicznych i endokrynologicznych. Z badania zostali wykluczeni pacjenci z chorobami endokrynologicznymi, zaburzeniami odżywiania, będący podczas terapii sterydami oraz ze złośliwym rozsianym nowotworem. Otrzymane dane zostały poddane weryfikacji na podstawie dostępnej dokumentacji medycznej. Dodatkowo każdy pacjent poddany został badaniu lekarskiemu, włącznie z pomiarem ciśnienia tętniczego, wzrostu, masy ciała i obwodu pasa.

Nadwagę rozpoznano u pacjentów, u których obwód pasa wynosił ≥ 94 cm i < 102 cm (mężczyźni) oraz ≥ 80 cm i < 88 cm (kobiety), zaś otyłość przy obwodzie pasa ≥ 102 cm (mężczyźni) oraz ≥ 88 cm (kobiety). Grupę kontrolną stanowiło 119 osób z prawidłowym obwodem pasa (u kobiet < 80 cm, u mężczyzn < 94 cm). Do grupy kontrolnej zakwalifikowano 37 kobiet oraz 82 mężczyzn, do grupy z nadwagą 59 kobiet i 48 mężczyzn, natomiast do grupy otyłych 149 kobiet i 63 mężczyzn. Ponadto osoby z grupy otyłych okazały się istotnie statystycznie starsze (średnia wieku 58 lat) w porównaniu z grupą kontrolną (45 lat) i z nadwagą (51 lat) ($p < 0,001$). Z ankiety wynika, że 109 osób pali papierosy, 37 cierpi na cukrzycę typu 2, 274 choruje na nadciśnienie tętnicze. Średni czas trwania nadciśnienia tętniczego wyniósł 7,98 roku, a cukrzycy typu 2 7,27 roku.

Po wyrażeniu świadomej zgody w formie pisemnej na udział w badaniu klinicznym, w miejscowym laboratorium poradni pobrano krew żylną (20 ml) do badań biochemicznych (oceniano m.in. stężenie glukozy, insuliny i kreatyniny), 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

Oznaczenia stężenia glukozy i kreatyniny przeprowadzono przy użyciu spektrofotometru Epoll 20 Bio, natomiast do oceny poziomu insuliny wykorzystano metodę ELISA. Genomowe DNA wyizolowano z leu-



filtration rate eGFR was calculated based on the MDRD formula. The HOMA-IR (Homeostatic Model Assessment) and QUICK indices were used to evaluate insulin resistance.

Statistical analysis was performed using the Statistica 8.0 PL program for Windows. Parameters such as mean and standard deviation were calculated for all the tested values. Qualitative data is presented in percentages. The normality of the result distribution was evaluated based on the Shapiro-Wilk test. Multivariate ANOVA variance analysis (for data with normal distribution and meeting the assumptions of the analysis) was used to examine the effect of factors (independent variables) on the dependent variable and then post-hoc comparison was done using the Scheffe test. Statistical significance between the alleles was assessed on the basis of the chi-square test with Yates' correction. Correlation studies were performed using the Pearson correlation coefficient. Variables for which significance level p was less than 0.05 were considered statistically significant parameters.

RESULTS

The results of blood pressure and biochemical studies are presented in Table I.

Table II presents a statistical comparison of the studied groups (ANOVA); post-hoc comparison with the Scheffe test.

Table III shows the distribution of PFKP rs6602024 polymorphism genotypes in the studied groups.

No statistically significant differences were observed in the distribution of PFKP rs6602024 polymorphism genotypes between healthy individuals and overweight and/or obese patients. No significant differences were observed either between the control group and those overweight and obese altogether. There was no statistical significance between overweight and obese patients.

Table IV shows the distribution of PFKP rs6602024 polymorphism genotypes in the studied groups depending on sex.

No statistically significant differences were shown in the studied groups in the distribution of PFKP rs6602024 polymorphism genotypes between men and women.

Table V shows the distribution of PFKP rs6602024 polymorphism alleles in the studied groups depending on sex.

Statistically significant correlations were found between the distribution of PFKP rs6602024 polymorphism alleles between the studied groups. The studied overweight and obese women and men, as well as the whole study population of overweight women and men did not show statistically significant differences in the distribution of PFKP rs6602024 polymorphism

kocytów krwi obwodowej przy użyciu zestawu do izolacji DNA firmy Epicentre Technologies w pracowni biologii molekularnej Katedry i Kliniki Chorób Wewnętrznych, Diabetologii i Nefrologii SUM. Optymalizację stężeń wyizolowanego DNA do wartości 15 ng/ul wykonano na podstawie pomiaru spektrofotometrem NanoDrop firmy Thermo Scientific. Do genotypowania polimorfizmu rs6602024 znajdującego się w genie PFKP (fosfofruktokinazy) wykorzystano dwie znakowane fluorescencyjnie sondy, komplementarne do każdego z alleli, używając gotowego zestawu TaqMan Predesigned SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems). Reakcję łańcuchowej reakcji polimerazy i identyfikację alleli przeprowadzono w aparacie 7300 Real Time PCR System (Applied Biosystems). Współczynnik przesączania kłębuszkowego eGFR wyliczono ze wzoru według MDRD. Do oceny insulinooporności wykorzystano wskaźnik HOMA-IR (Homeostatic Model Assessment) i wskaźnik QUICKA.

Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą programu Statistica 8.0 PL dla systemu Windows. Dla wszystkich badanych wartości zostały obliczone takie parametry, jak średnia i odchylenie standardowe. Dane jakościowe przedstawiono w postaci wartości procentowych. Oceny normalności rozkładu otrzymanych wyników dokonano na podstawie testu Shapiro-Wilka. Do badania wpływu czynników (zmiennych niezależnych) na zmienną zależną zastosowano wieloczynnikową analizę wariancji ANOVA (dla danych o rozkładzie normalnym i spełniających założenia analizy), a następnie wykonano porównania post-hoc testem Scheffe'a. Znamienność statystyczną między badanymi allelami oceniono na podstawie testu χ^2 z poprawką Yatesa. Badania korelacyjne przeprowadzono za pomocą testu Pearsona. Za parametry istotne statystycznie uznawano zmienne, dla których poziom istotności p był mniejszy niż 0,05.

WYNIKI

Wyniki badania ciśnienia tętniczego i badań biochemicznych przedstawiono w tabeli I.

W tabeli II ujęto statystyczne porównanie badanych grup (test ANOVA) i post-hoc testem Scheffe'a.

W tabeli III przedstawiono rozkład genotypów polimorfizmu rs6602024 genu PFKP w badanych grupach.

Nie wykazano znamiennych statystycznie różnic w rozkładzie genotypów polimorfizmu rs6602024 genu PFKP pomiędzy osobami zdrowymi a pacjentami z nadwagą i/lub otyłością. Nie zaobserwowano również znamiennych odrębności pomiędzy grupą kontrolną a osobami z nadwagą i otyłością wziętych razem. Nie odnotowano znamienności statystycznej między osobami z nadwagą a chorymi z otyłością

**Table I.** Results of blood pressure and biochemical studies in studied groups.**Tabela I.** Wyniki badania ciśnienia tętniczego i badań biochemicznych w badanych grupach

Study parameter/Badany parametr	Control group/ Grupa kontrolna	Overweight persons/ Osoby z nadwagą	Obese persons/ Osoby z otyłością	Statistical significance/ Znamiennosc statystyczna
Systolic pressure (SBP) mmHg/Ciśnienie skurczowe (SBP) mmHg	127 ± 11	131 ± 13	139 ± 14	NS
Diastolic pressure (DBP) mmHg/Ciśnienie rozkurczowe (DBP) mmHg	78 ± 6	80 ± 9	82 ± 10	NS
Incidence of hypertension/Częstość występowania nadciśnienia tętniczego	26.05%	44.86%	63.68%	< 0.05
Incidence of type 2 diabetes/Częstość występowania cukrzycy typu 2	2.52%	4.67%	13.68%	< 0.05
Glucose concentration (mg/dl)/Stężenie glukozy (mg/dl)	76.19 ± 11.5	80.5 ± 14.6	87.88 ± 23.9	< 0.05
Insulin concentration [μIU/ml]/Stężenie insuliny [μIU/ml]	9.95 ± 7.53	12.30 ± 5.93	15.0 ± 9.8	< 0.05
HOMA-IR index/Współczynnik HOMA-IR	1.91 ± 1.62	2.45 ± 1.34	3.3 ± 2.45	< 0.05
Quick index/Wskaźnik Quicka	0.63 ± 0.36	0.61 ± 0.11	0.57 ± 0.08	< 0.05
eGFR-MDRD [ml/min/1.73 m ²]	91.34 ± 21.78	80.35 ± 19.62	73.77 ± 19.48	< 0.05

Table II. Post-hoc comparison of studied groups using Scheffe test**Tabela II.** Porównanie badanych grup post-hoc testem Scheffe'a

	Control group/overweight people/ Grupa kontrolna/osoby z nadwagą	Control group/obese people/ Grupa kontrolna/osoby z otyłością	Overweight people /obese people/ Osoby z nadwagą/osoby z otyłością
Incidence of hypertension/ Częstość występowania nadciśnienia tętniczego	= 0.0123	< 0.0001	= 0.0041
Incidence of type 2 diabetes/ Częstość występowania cukrzycy typu 2	NS	> 0.002	= 0.0224
Glucose concentration/ Stężenie glukozy	NS	< 0.0001	= 0.0052
Insulin concentration/ Stężenie insuliny	NS	< 0.0001	= 0.0266
HOMA-R	NS	< 0.0001	= 0.0021
QUICK	NS	= 0.038	NS
eGFR MDRD	= 0.0002	< 0.0001	= 0.0222

Table III. Distribution of PFKP rs6602024 polymorphism genotypes in studied groups**Tabela III.** Rozkład genotypów polimorfizmu rs6602024 genu PFKP w badanych grupach

Genotype/Genotyp	Control group/ Grupa kontrolna	Overweight people/ Osoby z nadwagą	Obese people/ Osoby z otyłością	Overweight and obese people/ Osoby z nadwagą i otyłością
GG	89.08	85.05	88.21	87.14
AG	10.08	13.08	11.79	12.24
AA	0.84	1.87	0.00	0.62

Table IV. Distribution of PFKP rs6602024 polymorphism genotypes in individual studied groups depending on sex**Tabela IV.** Rozkład genotypów polimorfizmu rs6602024 genu PFKP w poszczególnych badanych grupach z podziałem na płeć

Genotype/ Genotyp	Control group/ Grupa kontrolna		Overweight people/ Osoby z nadwagą		Obese people/ Osoby z otyłością		Overweight and obese people/ Osoby z nadwagą i otyłością	
	women/ kobiety	men/ mężczyźni	women/ kobiety	men/ mężczyźni	women/ kobiety	men/ mężczyźni	women/ kobiety	men/ mężczyźni
GG	100	84.15	81.36	89.58	89.93	84.13	88.34	86.48
AG	0	14.63	16.35	8.33	10.07	15.87	12.13	12.61
AA	0	1.22	1.69	2.08	0.00	0.00	0.48	0.90

**Table V.** Distribution of PFKP rs6602024 polymorphism alleles in individual studied groups depending on sex
Tabela V. Rozkład alleli polimorfizmu rs6602024 genu PFKP w poszczególnych badanych grupach z podziałem na płeć

Alleles/Allele	Control group/ Grupa kontrolna	Overweight people/ Osoby z nadwagą	Obese people/ Osoby z otyłością	Overweight and obese people/ Osoby z nadwagą i otyłością
G	94.11	91.12	94.10	93.10
A	5.89	8.88	5.90	6.90

Table VI. Distribution of PFKP rs6602024 polymorphism alleles in individual studied groups depending on sex
Tabela VI. Rozkład alleli polimorfizmu rs6602024 genu PFKP w poszczególnych badanych grupach z podziałem na płeć

Alleles/Allele	Control group/ Grupa kontrolna		Overweight people/ Osoby z nadwagą		Obese people/ Osoby z otyłością		Overweight and obese people/ Osoby z nadwagą i otyłością	
	women/ kobiety	men/ mężczyźni	women/ kobiety	men/ mężczyźni	women/ kobiety	men/ mężczyźni	women/ kobiety	men/ mężczyźni
G	100.00	91.46	88.98	93.75	94.96	92.06	93.26	92.79
A	0.00	8.54	11.02	6.25	5.04	7.94	6.74	7.21
Statistically significant difference/ Znamienna statystycznie różnica	Chi ² = 5.26 P = 0.0218		NS		NS		NS	

genotypes compared to men and women who were not overweight and/or obese. Table VI shows the distribution of PFKP rs6602024 polymorphism alleles in the individual study groups depending on sex.

The control group showed a statistically significant difference in the distribution of alleles between men and women. The group of women revealed a statistically significant difference in the G/A allele distribution between the control group and overweight (Chi² = 7.09; p = 0.0078) and those overweight and obese altogether (Chi² = 4.11; p = 0.0427). A statistically significant correlation of G/A allele distribution was reported between overweight women and obese patients (Chi² = 3.51; p = 0.0479). In contrast, the distribution of PFKP rs6602024 polymorphism G/A alleles in individual male groups was not statistically significant.

Table VII. Mean body weight of subjects, glucose and insulin levels and HOMA-R and QUICK indices in study group depending on PFKP rs6602024 polymorphism**Tabela VII.** Średnia masa ciała badanych, stężenie glukozy i insuliny oraz wskaźnik i HOMA-R i QUICKA w badanej grupie w zależności od polimorfizmu rs6602024 genu PFKP

	Genotype GG/ Genotyp GG	Genotype AG/ Genotyp AG	Genotype AA/ Genotyp AA
Body weight/ Masa ciała	74 ± 12	77 ± 11	75 ± 24
Glucose concentration/ Stężenie glukozy	83 ± 20	81 ± 14	90 ± 12
Insulin concentration/ Stężenie insuliny	13 ± 8	14 ± 11	12 ± 7
HOMA-R index/ Wskaźnik HOMA-R	2.69 ± 2.05	2.82 ± 2.45	2.32 ± 1.81
QUICK index/ Wskaźnik QUICK	0.59 ± 0.21	0.60 ± 0.10	0.65 ± 0.17

W tabeli IV przedstawiono rozkład genotypów polimorfizmu rs6602024 genu PFKP w badanych grupach z podziałem na płeć.

W grupie kontrolnej zaobserwowano znamiennej statystycznie różnicę pomiędzy kobietami i mężczyznami w rozkładzie alleli. W grupie kobiet stwierdzono istotną statystycznie różnicę w rozkładzie alleli G/A między osobami z grupy kontrolnej a osobami z nadwagą (Chi² = 7,09, p = 0,0078) oraz osobami z nadwagą i otyłością wziętych razem (Chi² = 4,11; p = 0,0427). Wykazano również znamiennej statystycznie korelację rozkładu alleli G/A pomiędzy kobietami z nadwagą a pacjentkami z otyłością (Chi² = 3,51; p = 0,0479). Natomiast rozkład alleli G/A polimorfizmu rs6602024 genu PFKP w poszczególnych grupach mężczyzn nie był istotny statystycznie.

W tabeli VII przedstawiono masę ciała badanych, stężenie glukozy i insuliny oraz wskaźniki HOMA-R i QUICKA w badanej grupie w zależności od polimorfizmu rs6602024 genu PFKP.

Nie wykazano znamiennej statystycznie korelacji pomiędzy rozkładem genotypów w badanym polimorfizmie genu PFKP a wynikami badań antropometrycznych i biochemicznych, ani pomiędzy rozkładem alleli polimorfizmu rs6602024 genu PFKP a wynikami badań antropometrycznych i biochemicznych.

DYSKUSJA

Jak wykazano w pracy, u osób z nadwagą oraz otyłością, a także w całej badanej grupie osób z nadwagą lub otyłością stwierdzono występowanie określonych zaburzeń metabolicznych w porównaniu z osobami bez nadwagi i otyłości. Wśród występujących zabu-



Table VII shows the body weight of the subjects, glucose and insulin levels, and HOMA-R and QUICK indices in the study group depending on the PFKP rs6602024 polymorphism.

No statistically significant correlation was found between the distribution of PFKP rs6602024 polymorphism genotypes and the results of anthropometric and biochemical examinations, or between PFKP rs6602024 polymorphism alleles and the results of anthropometric and biochemical tests.

DISCUSSION

The study showed that people overweight and obese, as well as the whole study group of overweight or obese people demonstrated certain metabolic disorders compared to those not overweight or obese. In the group of overweight or obese persons, metabolic disorders included a significantly higher prevalence of hypertension and diabetes, higher values of systolic and diastolic blood pressure, fasting glucose and HOMA-R and QUICK indices (Table I, II).

The study groups of overweight and obese subjects as well as all the whole study group overweight or obese revealed no statistically significant differences in the distribution of PFKP rs6602024 polymorphism genotypes and alleles compared to the controls (Table III, IV, V). The studied overweight men and women and obese subjects as well as women and men overweight or obese showed no statistically significant differences in the distribution of PFKP rs6602024 polymorphisms in comparison to men and women not overweight and/or obese.

The study demonstrated that the control group showed statistically significant differences in the distribution of alleles between women and men. The group of women revealed a statistically significant difference in the G/A allele distribution between the controls and overweight ($\text{Chi}^2 = 7.09$; $p = 0.0078$) and those overweight and obese altogether ($\text{Chi}^2 = 4.11$; $p = 0.0427$). There was also a statistically significant correlation in the G/A allele distribution between overweight and obese women ($\text{Chi}^2 = 3.51$; $p = 0.0479$). It should be noted that allele A was significantly more common in the studied groups. However, there was no statistically significant relationship between the distribution of PFKP rs6602024 polymorphism G/A alleles in the individual male groups (Table VI). No statistically significant correlation was found between the distribution of PFKP rs6602024 polymorphism genotypes and the results of anthropometric and biochemical tests, or between the distribution of PFKP rs6602024 polymorphism alleles and the results of anthropometric and biochemical studies (Table VII). Taking all of this

rzeń metabolicznych w grupie osób z nadwagą lub otyłością wymienić należy istotnie częstsze występowanie nadciśnienia tętniczego i cukrzycy, wyższe wartości ciśnienia skurczowego i rozkurczowego, wyższą glikemię na czczo oraz wyższe wskaźniki HOMA-R i QUICKA (tab. I, II).

U badanych grupach osób z nadwagą oraz z otyłością, a także w całej badanej grupie osób z nadwagą lub otyłością nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w rozkładzie genotypów i alleli polimorfizmu rs6602024 PFKP w porównaniu z grupą kontrolną (tab. III, IV, V).

U badanych kobiet i mężczyzn z nadwagą oraz u osób z otyłością, a także wśród kobiet i mężczyzn z nadwagą lub otyłością nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w rozkładzie genotypów polimorfizmu rs6602024 PFKP w porównaniu z kobietami i mężczyznami bez nadwagi i/lub otyłości.

Jak wykazano w pracy, w grupie kontrolnej zaobserwowano znamienne statystycznie różnice pomiędzy kobietami a mężczyznami w rozkładzie alleli. W grupie kobiet stwierdzono znamienne statystycznie różnicę w rozkładzie alleli G/A między osobami z grupy kontrolnej a osobami z nadwagą ($\text{Chi}^2 = 7.09$; $p = 0.0078$) oraz osobami z nadwagą i otyłością wziętych razem ($\text{Chi}^2 = 4.11$; $p = 0.0427$). Wykazano również istotną statystycznie korelację pod względem rozkładu alleli G/A pomiędzy kobietami z nadwagą a kobietami z otyłością ($\text{Chi}^2 = 3.51$; $p = 0.0479$). Przy czym należy zaznaczyć, że allel A występował znacznie częściej w badanych grupach. Nie wykazano natomiast znaczących statystycznie zależności pomiędzy rozkładem alleli G/A polimorfizmu rs6602024 genu PFKP w poszczególnych grupach u mężczyzn (tab. VI).

Nie wykazano znamiennych statystycznie korelacji pomiędzy rozkładem genotypów w badanym polimorfizmie genu PFKP a wynikami badań antropometrycznych i biochemicznych, ani pomiędzy rozkładem alleli polimorfizmu rs6602024 genu PFKP a wynikami badań antropometrycznych i biochemicznych (tab. VII).

Biorąc to wszystko pod uwagę nasuwa się pytanie, jak uzasadnić uzyskane wyniki badań.

Występowanie zaburzeń metabolicznych u osób z nadwagą i otyłością było opisywane już w poprzednio przeprowadzonych badaniach [2,5,6,7]. Otrzymane przez nas wyniki nie odbiegają od tych uzyskanych przez nas wyniki nie odbiegają od tych uzyskanych przez innych badaczy. Wyniki badań (nasze i innych) jednoznacznie świadczą o tym, że ryzyko rozwoju powikłań sercowo-naczyniowych u tych osób jest ogromne.

Należy zatem zastanowić się, co zrobić, aby nadwaga i otyłość nie rozwijały się. W patogenezie biorą udział zarówno czynniki środowiskowe, jak i genetyczne.



into account raises the question of how to justify the study results. The presence of metabolic disorders in overweight and obese people has already been described in previous studies [2,5,6,7]. Our results do not differ from those of other researchers. The results (ours and those obtained by other authors) clearly demonstrate that the risk of developing cardiovascular complications in these individuals is huge.

It is therefore important to consider what to do to stop the development of overweight and obesity. Both environmental and genetic factors are involved in the pathogenesis. In our considerations we took into account significant differences in the distribution of PFKP rs6602024 polymorphism genotypes. On the one hand, the PFKP rs6602024 polymorphism. We did not, on the other hand, find significant differences in the incidence of allele A in overweight and obese women (Table VI). The results are consistent with those of other authors [13,14] who showed that individuals with the allele A PFKP rs6602024 polymorphism had a significantly higher body weight. In our study, we found such a relationship in overweight women and overweight and obese women altogether. However, we did not find such a dependence in men or the whole study group or subgroups. It should be mentioned that not all researchers agree with these results [15,16].

We would like to emphasize that unfortunately the allele A PFKP rs6602024 polymorphism is very rare and therefore, it is very difficult to obtain unambiguous study results. This requires a further follow-up on large groups of overweight and obese people.

CONCLUSIONS

1. Overweight and obesity are very common in people reporting to the primary care outpatient clinic.
2. The presence of PFKP rs6602024 polymorphism allele A in women is associated with an increased risk of being overweight and obese.

REFERENCES

1. Biela U., Pająk A., Kaczmarczyk-Chałas K., Głuszek J., Tendera M., Waśkiewicz A., Kurjata P., Wyrzykowski B. Częstość występowania nadwagi i otyłości u kobiet i mężczyzn w wieku 20–74 lat. Wyniki programu WOBASZ. *Kardiol. Pol.* 2005; 63 (suppl. 4): 632–636.
2. Allender S., Rayner M. The burden of overweight and obesity-related ill health in the UK. *Obes. Rev.* 2007; 8(5): 467–473.
3. Bała M., Płaczekiewicz-Jankowska E., Topór-Mądry R., Leśniak W., Wiercińska E., Szczepaniak P., Jaeschke R., Sieradzki J., Grzeszczak W., Banasiak W. Characteristics of patients with type 2 diabetes of short duration in Poland. Rationale, design and preliminary results of the ARETAEUS1 study. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2009; 119(9): 533–540.
4. Bulik C.M., Sullivan P.F., Kendler K.S. Genetic and environmental contributions to obesity and binge eating. *Int. J. Eat. Disord.* 2003; 33(3): 293–298.
5. Męczałski B., Czyżyk A., Warenik-Szymankiewicz A. Rola genów w powstawaniu otyłości. *Współczesne poglądy, patogeneza, aspekty kliniczne.* *Endokrynol. Otyłość* 2008; 4(1): 27–37.
6. Stunkard A.J., Sørensen T.I., Hanis C., Teasdale T.W., Chakraborty R., Schull W.J., Schulsinger F. An adoption study of human obesity. *N. Engl. J. Med.* 1986; 314(4): 193–198.
7. Adamska E., Ostrowska L. Nutrigenetyka i nutrigenomika a leczenie otyłości i chorób towarzyszących. *Forum Zaburzeń Metabol.* 2010; 1(3): 156–167.
8. Vora S., Miranda A.F., Hernandez E., Francke U. Regional assignment of the human gene for platelet-type phosphofructokinase (PFKP) to chromosome 10p: novel use of polyspecific rodent antisera to localize human enzyme genes. *Hum. Genet.* 1983; 63(4): 374–379.

W naszych rozważaniach wzięliśmy pod uwagę polimorfizm rs6602024 genu PFKP. W badaniach nie wykazaliśmy istotnych różnic w rozkładzie genotypów polimorfizmu rs6602024 genu PFKP. Stwierdziliśmy natomiast istotne różnice w częstości występowania allelu A w grupie kobiet z nadwagą i otyłością (tab. VI). Uzyskane wyniki pokrywają się z rezultatami badań innych autorów [13,14], którzy wykazali, że u osób z obecnym allelem A polimorfizmu rs6602024 genu PFKP masa ciała jest istotnie wyższa. W naszych badaniach stwierdziliśmy taką zależność u kobiet z nadwagą oraz nadwagą i otyłością łącznie. Nie wykazaliśmy natomiast takiej zależności u mężczyzn i w całej badanej grupie osób, ani po podziale na podgrupę.

Należy tu zaznaczyć, że nie wszyscy jednak badacze zgadzają się z tymi wynikami badań [15,16].

Pragniemy w tym miejscu podkreślić, że niestety allel A polimorfizmu rs6602024 genu PFKP występuje bardzo rzadko i dlatego uzyskanie m.in. jednoznacznych wyników badań jest bardzo trudne. Wymaga to prowadzenia dalszych obserwacji na dużych grupach osób z nadwagą i otyłością.

WNIOSKI

1. Nadwaga i otyłość bardzo często występują u osób zgłaszających się do lekarza POZ.
2. Występowaniu allelu A polimorfizmu rs6602024 genu PFKP u kobiet towarzyszy zwiększone ryzyko nadwagi i otyłości.



9. Nakajima H., Raben N., Hamaguchi T., Yamasaki T. Phosphofructokinase deficiency; past, present and future. *Curr. Mol. Med.* 2002; 2: 197–212.
10. Belfiore F., Borzi V., Napoli, Rabuazzo A.M. Enzymes related to lipogenesis in the adipose tissue of obese subjects. *Metabolism* 1976; 25(5): 483–493.
11. Moon J.S., Kim H.E., Koh E., Park S.H., Jin W.J., Park B.W., Park S.W., Kim K.S. Krüppel-like factor 4 (KLF4) activates the transcription of the gene for the platelet isoform of phosphofructokinase (PFKP) in breast cancer. *J. Biol. Chem.* 2011; 286(27): 23808–23816.
12. Hannemann A. Jandrig B., Gaunitz F., Eschrich K., Bigl M. Characterization of the human P-type 6-phosphofructo-1-kinase gene promoter in neural cell lines. *Gene* 2005; 345(2): 237–247.
13. Morgan A.R., Thompson J.M., Murphy R., Black P.N., Lam W.J., Ferguson L.R., Mitchell E.A. Obesity and diabetes genes are associated with being born small for gestational age: Results from the Auckland Birthweight Collaborative study. *BMC Med. Genet.* 2010; 11: 125. doi:10.1186/1471-2350-11-125
14. Liu Y.J., Liu X.G. Wang L., Dina C., Yan H., Liu J.F., Levy S., Papasian C.J., Drees B.M., Hamilton J.J., Meyre D., Delplanque J., Pei Y.F., Zhang L., Recker R.R., Froguel P., Deng HW. Genome-wide association scans identified CTNBL1 as a novel gene for obesity. *Hum. Mol. Genet.* 2008; 17: 1803–1813.
15. Scuteri A., Sanna S., Chen W.M., Uda M., Albai G., Strait J., Najjar S., Nagaraja R., Orrù M., Usala G., Dei M., Lai S., Maschio A., Busonero F., Mulas A., Ehret G.B., Fink A.A., Weder A.B., Cooper R.S., Galan P., Chakravarti A., Schlessinger D., Cao A., Lakatta E., Abecasis G.R. Genome-Wide Association Scan Shows Genetic Variants in the FTO Gene Are Associated with Obesity-Related Traits. *PLoS Genet.* 2007; 3(7): e115. doi: 10.1371/journal.pgen.0030115.
16. Andreasen C.H., Mogensen M.S., Borch-Johnsen K., Sandbaek A., Lauritzen T., Sørensen T.I., Hansen L., Almind K., Jørgensen T., Pedersen O., Hansen T. Non-replication of genome-wide based associations between common variants in INSG2 and PFKP and obesity in studies of 18,014 Danes. *PLoS One.* 2008; 3(8): e2872. doi: 10.1371/journal.pone.00028.