



## Polimorfizm genu syntetazy acylo-CoA typu 5 (ACSL5) a występowanie nieprawidłowej masy ciała w korelacji do obwodu pasa wraz ze wskaźnikiem insulinooporności wśród populacji zamieszkującej region Polski Południowej

Acyl-CoA type 5 gene polymorphism and inappropriate body mass occurrence  
related to waist circumference and insulin resistance index among the population  
living in southern Poland

Magdalena Zdebska, Wioletta Szywacz, Grzegorz Matuszny, Alicja Abouda, Nikola Szweda, 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

### STRESZCZENIE

**WSTĘP:** Zaburzenia przemian lipidów i związana z nimi otyłość to problem coraz częściej dotykający ludzi w krajach wysoko rozwiniętych. Syntetaza acylo-CoA typu 5 (ACSL5) jest ważnym enzymem metabolizmu lipidów, biorącym udział w aktywacji kwasów tłuszczowych. Prawidłowe funkcjonowanie tego enzymu zapewnia substraty zarówno dla lipogenezy, jak i oksydacji kwasów tłuszczowych, stąd określenie związku między polimorfizmem genu dla ACSL5 a kształtowaniem otyłości stanowi istotny problem badawczy.

**CEL PRACY:** Celem pracy było wykazanie zależności między nieprawidłową masą ciała oraz wartością wskaźnika HOMA-IR (*homeostasis model assessment*) a występowaniem polimorfizmu genu syntetazy acylo-CoA izoformy 5.

**MATERIAŁ I METODY:** Przebadano łącznie 506 pacjentów, u których za pomocą sond specyficznie wiążących się z DNA matrycy oznaczono polimorfizm ACSL5 rs2419621.

**WYNIKI:** Za pomocą testu statystycznego Hardy'ego-Weinberga wykazano, że proporcje genotypów w populacji są zachowane. Wśród pacjentów stanowiących próbę badawczą wyróżniono 177 osób o prawidłowej masie ciała oraz 330 osób z nieprawidłową wartością indeksu BMI.

**WNIOSKI:** Wykazano brak zmiennych różnic statystycznych w rozkładzie genotypów polimorfizmu genu syntetazy acylo-CoA izoformy 5. Wyniki przeprowadzonego badania nie pozwalają wykazać zależności między polimorfizmem genu dla ACSL5 a kształtowaniem otyłości.

### SŁOWA KLUCZOWE

ACSL5, BMI, kwasy tłuszczowe, insulinooporność

Received: 08.06.2017

Revised: 08.09.2017

Accepted: 08.09.2017

Published online: 02.07.2018

**Adres do korespondencji:** 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, Polska, tel. + 48 32 27 12 511, e-mail: wgrzeszczak@sum.edu.pl

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

**ABSTRACT**

**INTRODUCTION:** Lipid metabolism disorders and the obesity connected with them are problems which occur increasingly more frequently in highly-developed countries. Acyl-CoA synthetase (ACSL) is an important enzyme in lipid metabolism taking part in the activation of fatty acids (FA). This makes determining the correlation between the gene polymorphism for ACSL and the development of obesity a relevant research issue.

**AIMS:** The aim of this study was to examine the dependence of the Acyl-CoA synthetase gene polymorphism on the occurrence of inappropriate body weight and HOMA-IR indicator values.

**MATERIAL AND METHODS:** A total of 506 patients were examined, whose ACSL5 rs2419621 polymorphism was determined using probes binding with a specific DNA matrix.

**RESULTS:** The results of the Hardy-Weinberg equilibrium test showed that the genotype proportions within the population are maintained. Among the patients from the research sample, 177 patients with a proper body weight were identified along with 330 patients with inappropriate Body Mass Index (BMI) values.

**CONCLUSIONS:** It was determined that there are no differences between the statistical variables in the distribution of acyl-CoA of isoform 5 synthetase gene polymorphism genotypes. Based on the results of the study, a correlation between the gene polymorphism for ACSL5 and the development of obesity cannot be determined.

**KEY WORDS**

ACSL5, BMI, fatty acids, insulin resistance

**WSTĘP**

Otyłość stanowi duże wyzwanie dla społeczeństwa ze względu na związane z nią różnorodne negatywne komplikacje u chorych. Osoby otyłe stanowią istotną część w grupie ryzyka zachorowalności na choroby układu sercowo-naczyniowego [1], częściej występują u nich dysfunkcje nerek, utrudnione jest również prowadzenie postępowania inwazyjnego w przypadku konieczności interwencji zabiegowych i pielęgnacyjnych.

W powstawaniu otyłości u pacjentów istotną rolę odgrywa nie tylko dieta i styl życia, ale też indywidualna informacja genetyczna zapisana w DNA. Narzędziami pomocnymi w ustalaniu enzymów i etapów metabolizmu, które mogą wpływać na rozwój otyłości, są inżynieria genetyczna i biochemia. Wyzwanie dla naukowców stanowi ustalenie nieprawidłowości w konkretnych szlakach, a także określenie fragmentu genomu odpowiedzialnego za daną dysfunkcję. Istotny też jest fakt, że znajomość indywidualnego profilu genetycznego może pozwolić na przewidywanie nie tylko predyspozycji do powstawania otyłości, ale również przebiegu i odpowiedzi na dietę redukcyjną.

W jednym z badań określono związek między polimorfizmem genu dla syntetazy acylo-CoA izoformy 5 a szybką utratą wagi u kobiet kaukaskich [2]. Istnieją publikacje podkreślające rolę genów zaangażowanych w lipolizę w przebiegu procesu utraty wagi [3].

Jednym z kluczowych enzymów odpowiadających za aktywację kwasów tłuszczowych, niezbędną do włączenia ich we wszystkie przemiany, jest syntetaza acylo-CoA [4].

W badaniach opisanych w tej publikacji badano wpływ polimorfizmu genu dla syntetazy acylo-CoA izoformy 5 na kształtowanie otyłości. Jest to tylko jedna z izoform, co podkreśla konieczność przeprowadzenia dalszych badań pod kątem wpływu polimorfizmu genów dla tych enzymów na występowanie otyłości. Dodatkowym powodem dalszej analizy roli genu dla tego enzymu w organizmie są publikacje wykazujące, że nieprawidłowości w ekspresji enzymu ACSL5 wiążą się z celiakią [5]. Informacje te sugerują, że zbadanie związku między polimorfizmem genu dla syntetazy acylo-CoA izoformy 5 a kształtowaniem otyłości rozumianej w aspekcie analizowanych przez nas wskaźników jest ważnym problemem badawczym.

**MATERIAŁ I METODY**

Badaniem objęto randomizowaną grupę 506 dorosłych pacjentów (222 kobiety oraz 284 mężczyzn) z regionu Polski Południowej. Grupę badawczą zebrano w Poradni Ogólnej Niepublicznego Zakładu Opieki Zdrowotnej „GMIN-MED.” w Dobieszowicach. Badania molekularne przeprowadzono w laboratorium Katedry i Kliniki Chorób Wewnętrznych, Diabetologii i Nefrologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego.

Badanie rozpoczęto pobraniem próbki krwi żyłnej do probówki-strzykawek S-Monovette firmy Sarstedt, zawierających wersenian potasu. Do czasu rozpoczęcia izolacji DNA próbówki z pobraną krwią przechowywano w temperaturze -200°C. DNA izolowano z leukocytów krwi obwodowej za pomocą zestawu firmy Epicentre Technologies. Początkowo dodawano



bufor wywołujący wstępną hemolizę pobranej krwi. Następnie próbkę odwirowywano, uzyskując w ten sposób osad złożony głównie z leukocytów. W celu uzyskania czystego DNA postępowano zgodnie z instrukcją producenta zestawu do izolacji DNA. Wobec tego dodawano roztwór Tissue & Cells Lysis, który wywoływał rozpad błon jądrowych leukocytów oraz degradację białek. Po dodaniu buforu MPC Protein i odwirowaniu otrzymywano złożony głównie z białek osad oraz supernatant zawierający kwas deoksyrybonukleinowy.

Potrzebny do dalszej pracy nadsącz przelewano do sterylnej próbki i dodawano schłodzony izopropanol. Alkohol wytrącał pozbawione białek DNA. W dalszej kolejności usuwano supernatant oraz alkohol, będący czynnikiem uniemożliwiającym prawidłowe wykonanie PCR (*polymerase chain reaction*). Otrzymane DNA rozpuszczono w buforze TE (TRIS i EDTA) oraz – za pomocą spektrofotometru NanoDrop (Thermo Scientific) – oceniano jego stężenie i stopień czystości. Następnie przygotowywano roztwory robocze matrycowego DNA o jednakowym stężeniu, poprzez odpowiednie rozcieńczanie w wodzie dejonizowanej.

Ostatnim etapem było przeprowadzenie łańcuchowej reakcji polimerazy aparatem 7300 Real Time PCR System (Applied Biosystems). Genotypowanie polimorfizmów prowadzono z wykorzystaniem znakowanych fluorescencyjnie sond TaqMan Pre-Designed SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems). Zidentyfikowane allele przeanalizowano.

## WYNIKI

W celu oceny występowania zależności między genem dla syntetazy acylo-CoA typu 5 a powstawaniem otyłości rozumianej w ujęciu wymienionych wcześniej wskaźników, dokonano zestawienia w formie wykresów w programie MS Excel rozkładu liczebności występowania poszczególnych alleli i genotypów u ludzi charakteryzujących się określoną wartością danego parametru. Przedstawienie danych w ten sposób oraz ich analizę poprzedzono zastosowaniem testu nieparametrycznego chi-kwadrat dostosowanego do badań kohortowych. Wartość  $p$  otrzymano stosując kalkulator internetowy przeznaczony do obliczeń statystycznych. Stopień swobody rozumiany jako liczba niezależnych wyników obserwacji (a), od której odjęto liczbę związków łączących te wyniki (b), wyniósł w tym przypadku:

$$A = 506 \quad b = 2 \quad (\text{allel C, allel T}) \quad a - b = 506 - 2 = 504$$

Wartość  $p$  wyniosła zatem  $p = \alpha = 0,05$ . Wykorzystując otrzymaną wartość  $p$  wykazano brak różnic zmiennych statystycznie w rozkładzie genotypów polimorfizmu genu dla syntetazy acylo-CoA izoformy 5.

Znajomość wartości  $p$  była niezbędna do określenia, że w tym przypadku zachowane zostało prawo Hardy'ego-Weinberga dotyczące stałości składu genetycznego populacji.

Kolejnym etapem było obliczenie w programie MS Excel współczynników korelacji Pearsona między wartościami otrzymanymi dla BMI i obwodu talii (1), BMI i współczynnika insulinooporności wyrażanym przez wartości HOMA-IR (2) oraz współczynnika HOMA-IR i obwodu talii (3). Wyniki te zostały przedstawione w tabeli I.

**Tabela I.** Wartości współczynnika korelacji Pearsona dla badanych korelacji

**Table I.** Pearson's correlation coefficient values for studied correlations

Badana korelacja	Wartość współczynnika korelacji Pearsona
BMI i obwód talii	0,88251
BMI i współczynnik HOMA-IR	0,35244
Współczynnik HOMA-IR i obwód talii	0,33086

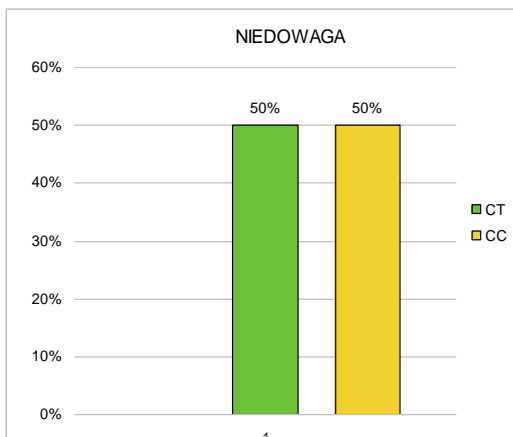
Opierając się na przedziałach wartości określających siłę korelacji między poszczególnymi zmiennymi i otrzymanymi przez nas wynikami, stwierdzono dość silną zależność między wartościami wskaźnika BMI a obwodem talii pacjentów. Na podstawie prezentowanych wyników można równocześnie stwierdzić słabą zależność między obwodem talii i wskaźnikiem insulinooporności oraz tym wskaźnikiem a wartościami BMI.

Program MS Excel wykorzystano również do analizy regresji w celu określenia, w jakim stopniu zależność między wymienionymi wartościami przypominała zależność liniową. Wyniki zestawiono w tabeli II. Ryciny 1–5 przedstawiają natomiast rozkład częstotliwości genotypów badanej populacji w odniesieniu do współczynnika BMI.

**Tabela II.** Współczynniki regresji dla badanych korelacji

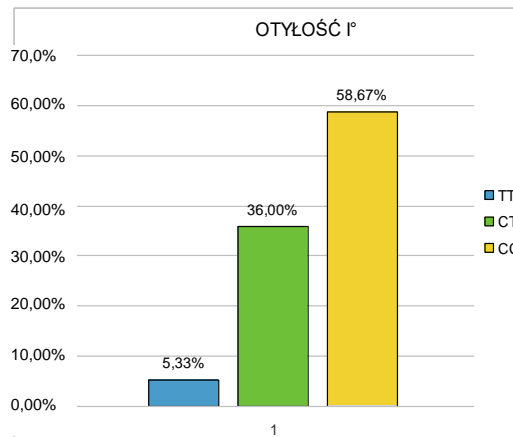
**Table II.** Regression coefficients for studied correlations

Badana korelacja	Współczynnik regresji
BMI i obwód talii	0,287
BMI i współczynnik HOMA-IR	0,664
Współczynnik HOMA-IR i obwód talii	0,057



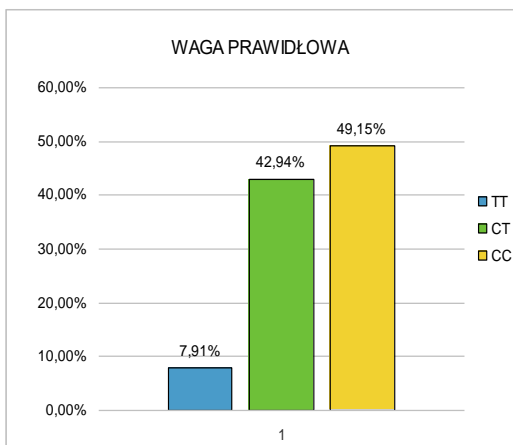
**Ryc. 1.** Rozkład częstości występowania genotypów CT i CC u pacjentów z niedowagą.

**Fig. 1.** Distribution of prevalence of CT and CC genotypes in underweight patients.



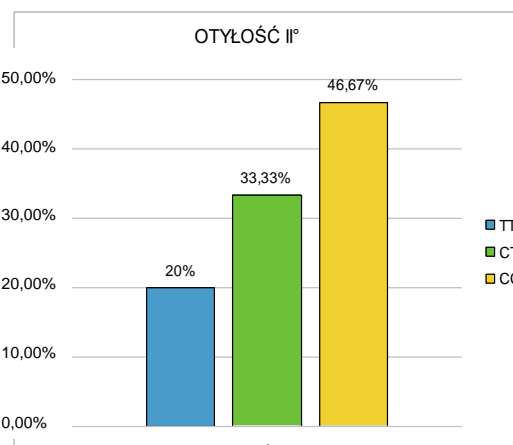
**Ryc. 4.** Rozkład częstości występowania genotypów TT, CT i CC u pacjentów z otyłością I stopnia.

**Fig. 4.** Distribution of prevalence of TT, CT and CC genotypes in patients with 1st degree obesity.



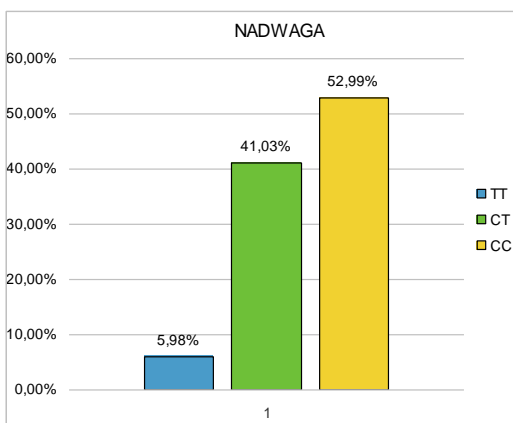
**Ryc. 2.** Rozkład częstości występowania genotypów TT, CT i CC u pacjentów o wadze prawidłowej.

**Fig. 2.** Distribution of prevalence of TT, CT and CC genotypes in patients with normal weight.



**Ryc. 5.** Rozkład częstości występowania genotypów TT, CT i CC u pacjentów z otyłością II stopnia.

**Fig. 5.** Distribution of prevalence of TT, CT and CC genotypes in patients with grade II obesity.

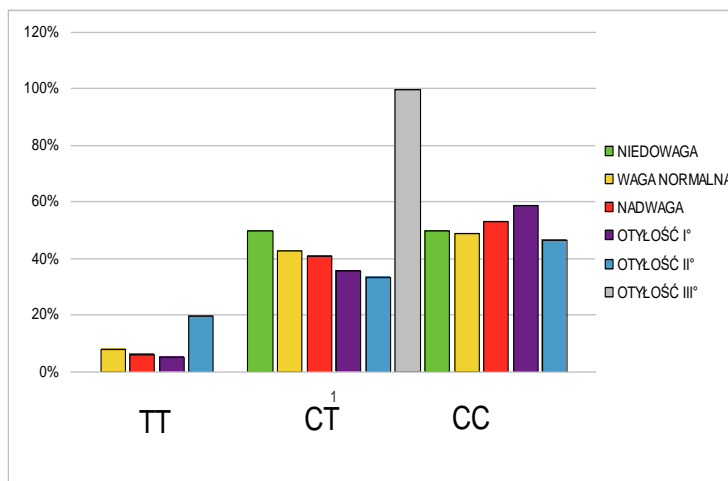


**Ryc. 3.** Rozkład częstości występowania genotypów TT, CT i CC u pacjentów z nadwagą.

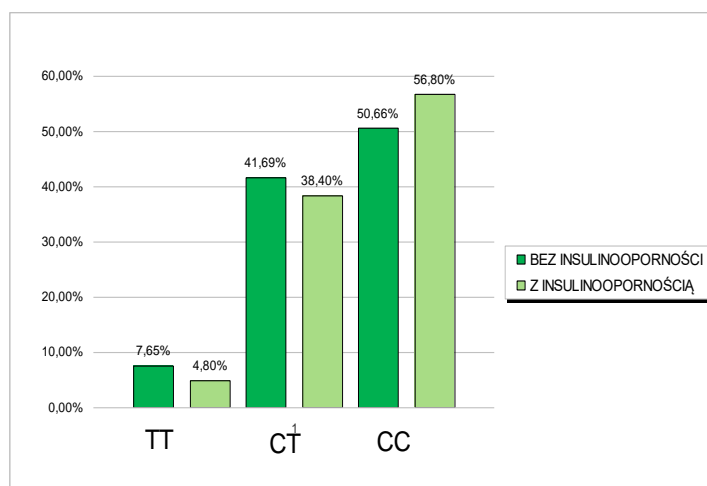
**Fig. 3.** Distribution of prevalence of TT, CT and CC genotypes in overweight patients.

Przytoczone analizy dowodzą, że w badanej korelacji dominował allel C genu syntetazy acylo-CoA typu 5 – (ryc. 6).

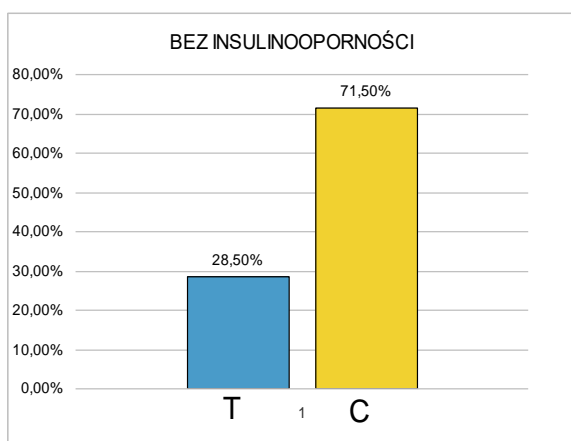
Rozważano również korelacje między częstością występowania allelu bądź genotypu a wartościami HOMAR-IR. U pacjentów bez insulinooporności najczęściej występuje genotyp CC (50,66%). Heterozygoty stanowią 41,69% grupy badanej, a heterozygoty TT 7,65%. Sytuacja kształtuje się podobnie u osób z insulinoopornością: CC – 56,8%, CT – 38,4%, TT – 4,8%. W związku z tym nie zaobserwowano korelacji między analizowanymi czynnikami. Rozkład genotypów u pacjentów z insulinoopornością oraz bez insulinooporności jest przeanalizowany na rycinie 7. Ryciny 8 oraz 9 przedstawiają procentowy rozkład alleli pacjentów ze zdefiniowaną insulinoopornością oraz pacjentów bez insulinooporności.



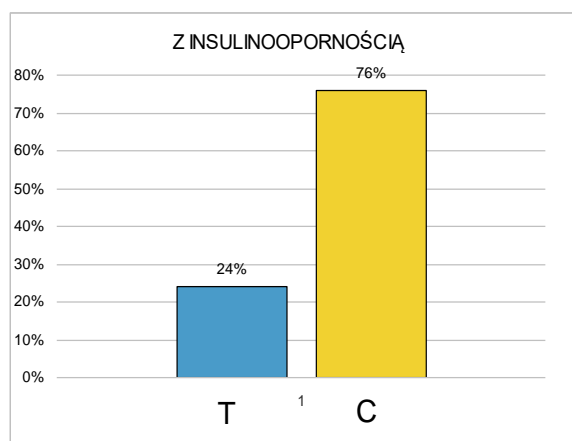
Ryc. 6. Częstość występowania poszczególnych genotypów w zależności od wagi.  
Fig. 6. Prevalences of individual genotypes depending on weight.



Ryc. 7. Występowanie insulinooporności i jej brak w zależności od genotypów (CC, TT, CT).  
Fig. 7. Occurrence of insulin resistance and its lack depending on genotypes (CC, TT, CT).



Ryc. 8. Rozkład częstości występowania alleli T i C u pacjentów bez insulinooporności.  
Fig. 8. Distribution of prevalence of T and C alleles in patients without insulin resistance.



Ryc. 9. Rozkład częstości występowania alleli T i C u pacjentów z insulinoopornością.  
Fig. 9. Distribution of prevalence of T and C alleles in patients with insulin resistance.



## WNIOSKI

Otrzymane wyniki nie dowodzą występowania zależności między polimorfizmem genu dla syntetazy acylo-CoA a kształtowaniem współczynników insulinoporności.

Stwierdzono, że w populacji zamieszkującej region Polski Południowej najczęstszym allelem genu dla syntetazy acylo-CoA izoformy 5 jest allel C.

Dodatkowo stwierdzono, iż różnice w częstości występowania genotypów u mężczyzn i kobiet o wadze prawidłowej mogą stanowić podstawę dalszych badań pod kątem zależności polimorfizmu genu ACSL5 od płci w ujęciu procesu powstawania otyłości.

W związku z tym, iż przeprowadzone badania nie pozwalają określić zależności między polimorfizmem genu dla ACSL5 a współczynnikami otyłości, niemożliwe jest zaproponowanie zaleceń dietetycznych dla osób zależnie od ich profilu genetycznego względem genu dla ACSL5. Dalsze badania pod tym kątem są jednak niezbędne, ponieważ mogą dostarczyć cennych informacji związanych z możliwościami walki z nadwagą.

## DYSKUSJA

Celem pracy było wykazanie zależności między nieprawidłową masą ciała oraz wartością wskaźnika HOMA-IR a występowaniem polimorfizmu genu syntetazy acylo-CoA izoformy 5 w populacji zamieszkującej region Polski Południowej, a także ocena, czy zwiększona podatność na otyłość ma związek z polimorfizmem ACSL5.

Otyłość w Polsce Południowej to poważny problem, co potwierdza liczba osób o nieprawidłowej masie ciała w grupie badanej. W badanej próbie było 284 mężczyzn oraz 222 kobiety. Taki rozkład liczebności przedstawicieli obu płci mógł również wpływać na oczekiwania dotyczące rozpatrywania otrzymanych wyników badań pod kątem płci. Dodatkowo duża liczba pacjentów z nadwagą w aspekcie wybranych przez nas wskaźników potwierdza zasadność przeprowadzania badań nad modelem genetycznym powstawania otyłości. Dlatego ustalenie korelacji między wskaźnikami otyłości a polimorfizmem ACSL5 może wpłynąć na profilaktykę i leczenie otyłości.

Po zastosowaniu sond specyficznie wiążących się z DNA rs2419621 oznaczono genotypy pacjentów pod względem izoformy 5 syntetazy acylo-CoA. Analiza rozkładu genotypów z poszczególnymi wskaźnikami

otyłości wykazała brak korelacji między wskaźnikiem insulinoporności a badanym polimorfizmem. Zaobserwowano natomiast różnice w częstości występowania genotypów u mężczyzn i kobiet o wadze prawidłowej. Dane takie mogą stanowić podstawę dalszej dyskusji na temat genetycznego aspektu kształtowania się otyłości w kontekście płci. Jest to o tyle istotne, że w naszym społeczeństwie mężczyźni i kobiety przyjmują w ramach wykonywanych zawodów różne rodzaje pracy fizycznej, co wymusza zróżnicowanie przyjmowanych pokarmów w diecie oraz w konsekwencji wpływa, jako istotny czynnik, na powstawanie otyłości. Poznanie genetycznego podłoża predyspozycji do otyłości lub predyspozycji do skutecznej walki z nią mogłoby stanowić potężne narzędzie służące poprawie dobrobytu społecznego.

Przeprowadzone badania nie pozwalają ustalić korelacji między izoformą 5 syntetazy acylo-CoA a wskaźnikami otyłości ani określić jakichkolwiek zaleceń dietetycznych dla pacjentów ze znanym polimorfizmem genu dla ACSL5. Jednak badania dają podstawę do przeprowadzenia dalszych badań nad polimorfizmami enzymów szlaku lipogenezy, co zostało omówione na wstępie niniejszej publikacji. Indywidualna gospodarka lipidowa i jej poznanie w niedługim czasie mogą stanowić kluczowe zagadnienia w tworzeniu spersonalizowanej metody walki z otyłością. Publikacja ta wpisuje się w kontekst poszukiwań dotyczących rozwiązań mających na celu wyjaśnienie indywidualnych, zapisanych w materiale genetycznym, skłonności do kształtowania otyłości.

Cel nie został osiągnięty prawdopodobnie ze względu na zbyt małą grupę badaną. Kolejne badania prowadzone w tym kierunku powinny objąć większą grupę pacjentów. Możliwy jest brak korelacji między otyłością i polimorfizmem ACSL5, jednak prezentowane wyniki wskazują na sens dalszych badań, przede wszystkim ze względu na następujące obserwacje:

- dominowanie allelu C nad T,
- przeważająca liczba pacjentów będących homozygotami CC nad heterozygotami CT wśród badanych z nadwagą i otyłością I stopnia,
- inne publikacje naukowe dotyczące polimorfizmów enzymu związanych z kwasami tłuszczowymi.

Biorąc pod uwagę, że w niniejszym badaniu został przeanalizowany polimorfizm genu dla tylko jednej izoformy syntetazy acylo-CoA, trzeba stwierdzić, że dalsze poszukiwania korelacji między danym polimorfizmem a powstawaniem otyłości są niezbędne. Warto zwrócić również uwagę na istotność tych działań w dążeniu do opracowania spersonalizowanej terapii i programu walki z otyłością.



---

**Author's contribution**

Study design – W. Grzeszczak, N. Szveda, M. Śnit

Data collection – M. Gola

Data interpretation – M. Zdebska, W. Szywacz, G. Matuszny, A. Abouda, N. Szveda

Statistical analysis – A. Abouda, N. Szveda

Manuscript preparation – M. Zdebska, W. Szywacz, G. Matuszny, A. Abouda

Literature research – M. Zdebska, W. Szywacz, G. Matuszny, A. Abouda

---

**PIŚMIENNICTWO:**

1. Wilson P.W., D'Agostino R.B., Sullivan L., Parise H., Kannel W.B. Overweight and Obesity as Determinants of Cardiovascular Risk – The Framingham Experience. *Arch. Intern. Med.* 2002; 162(16): 1867–1872.
2. Teng A.C., Adamo K., Tesson F., Stewart A.F. Functional characterization of a promoter polymorphism that drives ACSL5 gene expression in skeletal muscle and associates with diet-induced weight loss. *FASEB J.* 2009; 23(6): 1705–1709, doi: 10.1096/fj.08-120998.
3. Luglio H.F., Sulistyoningrum D.C., Susilowati R. The role of genes involved in lipolysis on weight loss program in overweight and obese individuals. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2015; 57(2): 91–97, doi: 10.3164/jcbn.14-117.
4. Murray R.K., Granner D.K., Rodwell V.W. *Biochemia Harpera* ilustrowana. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1994, s. 229–241.
5. Obermüller N., Keith M., Kopitz J., Autschbach F., Schirmacher P., Gassler N. Coeliac disease is associated with impaired expression of acyl-CoA-synthetase 5. *Int. J. Colorectal. Dis.* 2006; 21(2): 130–134, doi: 10.1007/s00384-004-0738-6.
6. Luglio H.F. Genetic Variation of Fatty Acid Oxidation and Obesity, a Literature Review. *Int. J. Biomed. Sci.* 2016; 12(1): 1–8.